

NIR-ANALYSAATTORIN TIETOKANNAN LUOMINEN JA KÄYTETTÄVYYDEN PARANTAMINEN



Ammattikorkeakoulututkinnon opinnäytetyö

Hämeen ammattikorkeakoulu, bio- ja elintarviketekniikka

Kevät, 2020

Eino Hiltunen
Milma Uutera

Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma
Hämeenlinna

Tekijät	Eino Hiltunen ja Milma Uuttera	Vuosi 2020
Työn nimi	NIR-analysaattorin tietokannan luominen ja käytettävyyden parantaminen	
Työn ohjaaja	Juha Isokangas	

TIIVISTELMÄ

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli perehtyä Nicolet iS50 FT-IR -spektrometrin toimintaan ja edesauttaa sen hyödyntämistä Hämeen ammatti-instituutin opetusmeijerin käytössä. Tarkoituksena oli kalibroida spektrometriin liitetty NIR-analysaattori (lähi-infrapuna-analysaattori) opetusmeijerissä valmistettaville tuotteille rasva- ja kuiva-ainepitoisuuden osalta. Kalibrointia varten oli luotava NIR-analysaattorille tietokanta. NIR-analysaattorin käytettävyyden parantamiseksi analysaattorille luotiin käyttöohjeet.

NIR-analysaattori kalibroitiin OMNIC™ Specta -ohjelmalla mitatuilla spektreillä ja referenssituloksilla. Referenssitulokset saatiin opetusmeijerissä käytössä olevilla kemiallisilla analysointimenetelmillä. Rasvapitoisuus analysoitiin Gerber- sekä Van Gulik -menetelmillä ja kuiva-ainepitoisuus infrapunakuivaimella. Kalibrointi suoritettiin TQ Analyst -ohjelmalla käyttämällä regressioanalyysissä pienimmän neliösumman menetelmää (PLS-regressio).

Kattavaa tietokantaa ei pystytty luomaan, koska näytteiden analysointiin varattu aika loppui kesken kansallisen poikkeustilan vuoksi. Tämän takia näytteitä oli liian vähän hyvien regressioanalyysien luomiseksi. Kalibrointia voidaan jatkaa tässä työssä tehdyillä käyttöohjeilla.

Avainsanat Lähi-infrapunaspektroskopia, kalibrointi, PLS-regressio, maitotuotteet

Sivut 52 sivua, joista liitteitä 12 sivua

Degree Programme in Biotechnology and Food Engineering
Hämeenlinna University Centre

Authors	Eino Hiltunen and Milma Uuttera	Year 2020
Subject	Creating the Database and Improving the Usability of NIR-analyzer	
Supervisor	Juha Isokangas	

ABSTRACT

The aim of the thesis was to study the operational principles of Nicolet iS50 FT-IR spectrometer and enhance its utilization in the dairy school of Häme Vocational Institute. The purpose was to calibrate the NIR-analyzer (near-infrared analyzer) which was a part of the spectrometer. The calibration was conducted for the products made in dairy school in terms of fat and dry matter content. The database of the NIR-analyzer had to be created for the calibration. Operating instructions were made for the NIR-analyzer to improve the usability of the analyzer in Häme Vocational Institute.

The NIR-analyzer was calibrated with the spectra from the OMNICTM Spectra program and reference results from chemical analysis used in the dairy school. The fat contents were analyzed by Gerber and Van Gulik methods whereas the dry matter contents analysis was carried out by an infrared dryer. The calibration was made with TQ Analyst program using the partial least squares regression (PLS regression).

In conclusion, the comprehensive database could not be created because the time projected for the analyzes was cut short due to a national state of emergency. Because of this, there were not enough samples to create valid regression analyzes. However, the calibration can be continued with the operating instructions made in this thesis.

Keywords Near-infrared spectroscopy, calibration, PLS regression, dairy products

Pages 52 pages including appendices 12 pages

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	1
2	INFRAPUNASPEKTROSKOPIA	2
2.1	Menetelmät.....	2
2.2	Nicolet iS50 FT-IR -spektrometri	5
3	ANALYSOITAVAT MAITOTUOTTEET	7
3.1	Maidon koostumus	7
3.1.1	Laktoosi.....	8
3.1.2	Rasva.....	8
3.1.3	Proteiini	9
3.1.4	Mineraalit	10
3.2	Ravintorasvat.....	10
3.3	Juustot	11
3.4	Hapanmaitotuotteet	13
3.4.1	Jogurtti.....	14
3.4.2	Piimä	14
3.4.3	Viilit ja hapankermat	14
3.5	Maidon komponenttien havaittavuus NIR-alueilla	15
4	KEMIALLISET ANALYYSIT	15
4.1	Rasvapitoisuuden määrittäminen	15
4.2	Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen.....	16
4.3	Voin suola-, vesi- ja rasvapitoisuuden määrittäminen.....	17
5	REGRESSIOANALYYSI	18
5.1	Pienimmän neliösumman menetelmä	18
5.2	Lineaarinen regressioanalyysi	19
5.3	Mallin validointi.....	19
5.3.1	Kalibroinnin keskimääräinen neliövirhe RMSEC.....	20
5.3.2	Ennustuksen neliövirhe RMSEP	20
5.3.3	Virheen residuaalin neliösumma PRESS-kaavio	21
5.3.4	Datan tasoittaminen.....	21
6	TYÖN TOTEUTUS JA TULOKSET	22
6.1	Ravintorasvat.....	22
6.2	Juustot	25
6.3	Jogurtit	27
6.4	Piimät	30
6.5	Viilit ja kermaviilit.....	32
7	JOHTOPÄÄTÖKSET	35
7.1	Kemialliset analyysit.....	35

7.2	Näytteiden mittaus ja regressioanalyysin luominen.....	36
7.3	Tulosten pohdinta	36
LÄHTEET		38

Liite 1	Ravintorasvojen rasva- ja kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot
Liite 2	Juustojen rasva- ja kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot
Liite 3	Jogurttien rasva- ja kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot
Liite 4	Piimien rasva- ja kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot
Liite 5	Viilien ja kermaviilien rasva- ja kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot
Liite 6	Nicolet iS50 FT-IR -spektrometriin liitetyn NIR-analysaattorin käyttöohjeet: NIR-analysaattorilla mittaaminen OMNIC™ Specta -ohjelmalla
Liite 7	Nicolet iS50 FT-IR -spektrometriin liitetyn NIR-analysaattorin käyttöohjeet: NIR-analysaattorin kalibroiminen TQ Analyst-ohjelmalla

1 JOHDANTO

Tämä opinnäytetyö tehtiin osana bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelmaa. Työn tilaajana toimi Hämeen ammatti-instituutti. Työssä perehdyttiin Hämeen ammatti-instituutin opetusmeijerin Nicolet iS50 FT-IR -spektrometriin liitetyn NIR-analysaattorin toimintaan. Työn tavoitteena oli parantaa NIR-analysaattorin käytettävyyttä ja helpottaa opetusmeijerin lopputuotteiden laadunvalvontaa.

Tarkoituksena oli kalibroida NIR-analysaattori ravintorasvojen, juustojen ja hapanmaitotuotteiden analysointia varten. NIR-analysaattorin toiminta perustuu eri molekyylien värähtelyn aallonpituuteen niiden absorboidessa infrapunasäteilyä lähi-infrapuna-alueella. NIR-analysaattorin näyttemittauksiin käytettiin OMNIC™ Specta -ohjelmaa, joka loi näytteistä spektrit. Kalibrointiin tarvittiin spektrien lisäksi referenssitulokset. Referenssitulokset saatiin jo käytössä olevilla analysointimenetelmillä. Analysoitavista tuotteista tutkittiin rasva- ja kuiva-ainepitoisuutta. Rasvapitoisuus saatiin Gerber- ja Van Gulik -menetelmillä ja kuiva-ainepitoisuus infrapuna-kuivaimella. Proteiinia ja laktoosia ei tutkittu, koska niiden referenssitulosten mittaamiseen ei ollut sopivia menetelmiä. NIR-analysaattorin kalibrointiprosessi vaatii paljon rinnakkaisnäytteitä, joiden avulla saadaan tilastollinen malli. Tavoitteena oli analysoida jokaisesta tuotteesta 20 eri näytettä. Tilastollinen malli (regressioanalyysi) luotiin TQ Analyst -ohjelmalla käyttämällä pienimmän neliösumman menetelmää (PLS). Lisäksi NIR-analysaattorille laadittiin käyttöohjeet meijeriopiskelijoiden käyttöön, jotta NIR-analysaattori saadaan osaksi opetusmeijerin laboratoriotyöskentelyä. Opinnäytetyön tutkimuskysymykset olivat seuraavat:

- Miten NIR-analysaattori saadaan käyttöön opetusmeijerissä?
- Miten NIR-analysaattorille saadaan kattava tietokanta?
- Saadaanko NIR-analysaattorilla luotettavia tuloksia?

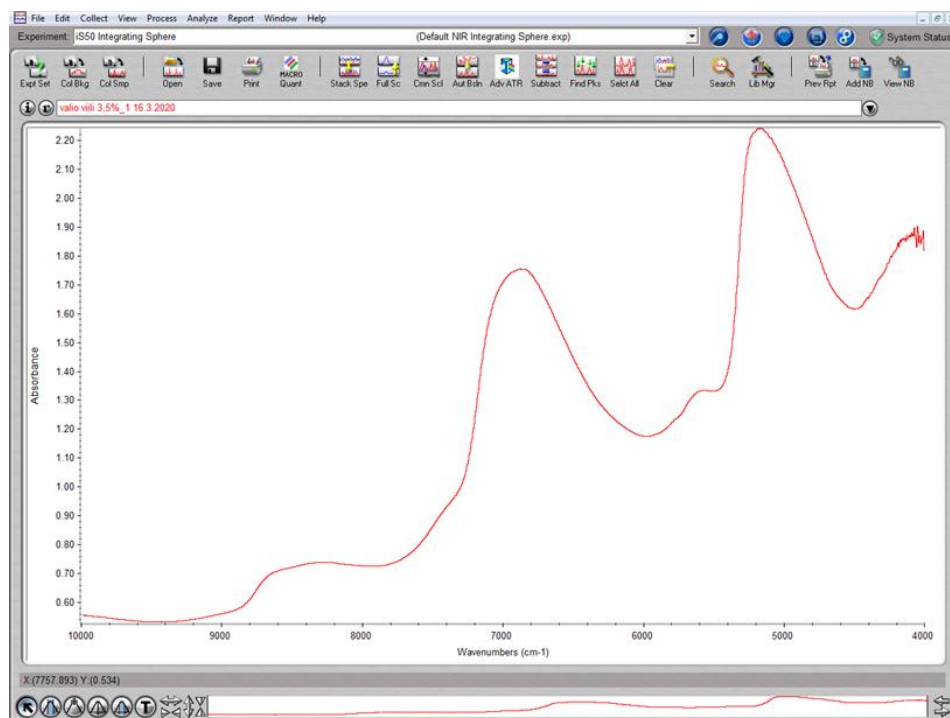
2 INFRAPUNASPEKTROSKOPIA

Infrapunaspektroskopia (IR-spektroskopia) on ennestään tunnettujen orgaanisten yhdisteiden tunnistamiseen käytettävä menetelmä. Sitä hyödynnetään lopputuotteiden kemiallisessa laadunvalvonnassa. Infrapunaspektroskopia perustuu eri molekyylien värähtelyn aallonpituuteen niiden absorboidessa infrapunasäteilyä. Infrapunaspektroskopia on laajalti käytössä teollisuudessa, koska menetelmä on nopea, helppokäyttöinen, luotettava ja se ei vaadi näytteeltä paljoa erillisvalmisteluita. Tulosten luotettavuuteen vaikuttaa tietokannan laajuus. Mitä enemmän referenssituloksia tietokantaan on lisätty, sitä tarkempia tuloksia NIR-analysaattori antaa. (Opetushallitus, n.d.; Honkavirta, 2020)

2.1 Menetelmät

Molekyylien sidokset värähtelevät jatkuvasti omilla taajuuksillaan. IR-spektroskopia perustuu siihen, että näyte absorboi IR-valoa, kun näytteen molekyylien sidosten värähtelytaajuus on sama IR-valon taajuuden kanssa. IR-valon absorptio aiheuttaa muutoksia molekyylin värähtelyyn. Kahden atomin sidokset voivat venyä ja useamman atomin sidokset voivat taipua. Erilaiset sidokset absorboivat IR-säteilyä eri spektralueilla. Jokaisella orgaaninen aine muodostaa erilaisen spektrin, jonka avulla se pystytään tunnistamaan. (Opetushallitus, n.d.)

IR-spektroskopiassa kemiallisen koostumuksen analysointiin käytetään spektrometriä. Spektrometri kohdistaa näytteeseen IR-valoa. Näytteen läpi kulkenut absorboitumaton IR-valo kulkeutuu ilmaisimelle, jonka perusteella laite muodostaa näytteestä IR-spektrin eli graafisen kuvaajan. IR-spektrissä y-akseli kertoo absorbanssin osuuden (%) ja x-akseli kertoo aaltoluvun (cm^{-1}). Absorbanssin ollessa 100 %, kaikki IR-valo absorboituu. Jos absorbanssi on 0 %, absorptiota ei tapahdu. Spektriin syntyy absorptiopiikki niille aaltolukualueille missä absorptiota tapahtuu. Spektrometri muodostaa jokaisesta orgaanisesta aineesta omanlaisen spektrin, jonka avulla laite tunnistaa aineen. Kuvassa 1 (s. 3) on esimerkki Valio viilin IR-spektristä. (Honkavirta, 2020)



Kuva 1. Valio viilin IR-spektri OMNIC™ Spectra -ohjelmassa.

Absorptiopiikin sijaintiin vaikuttavat sidoksen muodostavien atomien massa ja sidosluku. Vahvemmat sidokset ja kevyemmät atomit värähtelevät korkeammilla taajuuksilla eli niiden aaltoluvut ovat suuremmat. Sidoslukuun ja massan vuorovaikutusta taajuuteen kuvaa Hooken laki (Kaava 1). (Metrohm, 2013, ss. 6–8)

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (1)$$

jossa

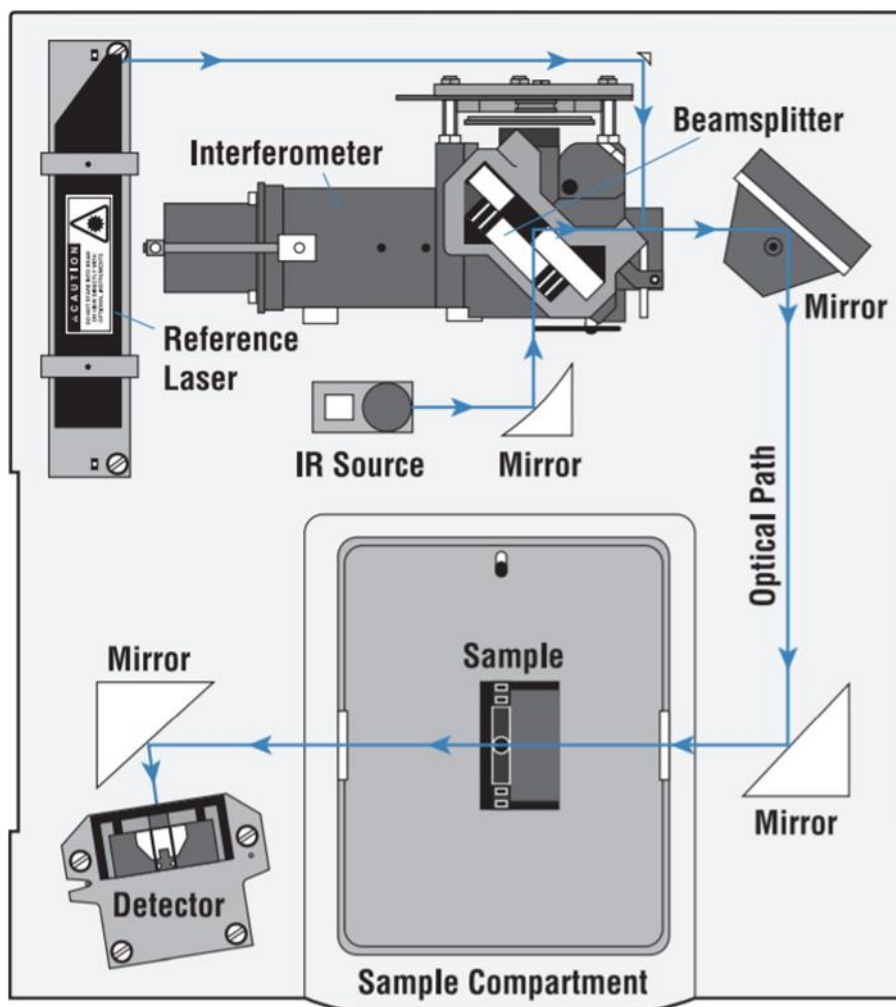
$\tilde{\nu}$ = aaltoluku

k = voimavakio (sidosluku)

μ = massa

FTIR (FT, fourier transformation) on interferenssiin perustuva analysointimenetelmä, joka muodostaa spektrin Fourier-muunnoksen avulla. FTIR-menetelmän avulla pystytään tunnistamaan materiaaleja, selvittämään näytteen laatua ja johdonmukaisuutta ja määrittämään näytteen komponenttien pitoisuuksia. FTIR-laitteisto on havainnollistettuna kuvassa 2 (s. 4). FTIR-spektrometri koostuu valonlähteestä, interferometristä ja ilmaisimesta. Valonlähde säteilee infrapunavaloa interferometriin. Interferometri koostuu säteenjakajasta, liikkuvasta peilistä ja paikallaan olevasta peilistä. Säteenjakaja jakaa valonlähteestä tulevan infrapunavalon molempiin peileihin. Valo heijastuu peileistä takaisin säteenjakajalle. Koska

toinen peili liikkuu, siitä heijastuvan valon matka muuttuu koko ajan. Säteenjakajalla yhteen palaavat infrapunavalonsäteet interferoivat ja ne ohjataan näytteeseen. Näyte absorboi osan valosta. Loppu infrapuna valo jatkaa ilmaisimelle, joka laskee näytteestä läpi menneen valon määrän ja ilmoittaa sen tietokoneelle. Tietokone muodostaa interferenssikuvista spektrin. Perinteiseen dispersiiviseen menetelmään verrattuna FTIR on nopeampi, tarkempi, siinä on vain yksi jatkuvasti liikkuva osa, joten se on mekaanisesti kestävä ja siinä on referenssiläserin avulla toimiva sisäinen kalibrointi. (Thermo Scientific, n.d.a.)



Kuva 2. FTIR-spektrometrin toimintaperiaate. (Thermo Scientific, n.d.a.)

Lähi-infrapunaspektroskopia (NIR, near infrared) on spektroskopian muoto, jolla tutkitaan pääasiassa orgaanisia yhdisteitä aaltolukualueella $4\,000\text{--}10\,000\text{ cm}^{-1}$. Lähi-infrapunaspektroskopiaa käytetään näytteen pitoisuuksien määrittämiseen. NIR-spektrissä absorptiopiikit ovat loivia. Jokainen orgaaninen ryhmäfrekvenssi absorboi IR-valoa eri aaltolukualueella (Taulukko 1, s. 5). (Harris & Altaner, 2013, s. 4, 9; Honkavirta, 2020; Opetushallitus, n.d.; Metrohm, 2013, s. 8)

Taulukko 1. Orgaanisessa kemiassa tärkeitä ryhmäfrekvenssejä aallonpituuksina (nm) ja aaltolukuina (cm^{-1}) (Metrohm, 2013, s. 8)

Aallonpituus (nm)	Aaltoluku (cm^{-1})	Ryhmä
2500	4000	venyvä S-H sidos
2200-2460	4545-4065	venyvä C-H sidos
2000-2200	5000-4545	venyvä N-H sidos; venyvä O-H sidos
1620-1800	6173-5556	venyvä C-H sidos, ensimmäinen yliaani
1400-1600	7143-6250	venyvä N-H sidos, ensimmäinen yliaani; venyvä O-H sidos, ensimmäinen yliaani
1300-1420	7692-7042	venyvä C-H sidos
1100-1225	9091-8163	venyvä C-H sidos, toinen yliaani
950-1100	10526-9091	venyvä S=O sidos
850-950	11765-10526	venyvä N-H sidos, toinen yliaani; venyvä O-H sidos, toinen yliaani
775-850	12903-11765	venyvä C-H sidos, kolmas yliaani

2.2 Nicolet iS50 FT-IR -spektrometri

Nicolet iS50 FT-IR -spektrometri on Thermo Fisher Scientificin valmistama infrapunaspektrometri, jonka maahantuoja toimii Hosmed Oy. (Kuva 3, s. 6) Sen aaltolukualue on $7\,800\text{--}350\text{ cm}^{-1}$, jonka voi laajentaa $27\,000\text{--}20\text{ cm}^{-1}$ asti. Laitteen signaali-kohinasuhteet ovat 55 000:1 minuutin mittausjaksolla ja 13 000:1 viiden sekunnin mittausjaksolla. Laitteeseen voidaan liittää erilaisia moduuleita, riippuen siitä mitä IR-spektriä mitataan. Tässä opinnäytetyössä käytettävään laitteeseen on liitetty lähi-infrapuna-analysaattori (NIR). (Hosmed, n.d.)

Nicolet iS50 FT-IR -spektrometrissä on integroitu ATR-yksikkö (oikealla kuvassa 3), jolla voidaan tunnistaa aineita. ATR-yksiköllä analysoidessa näytettä tarvitaan vain yksi tippa peittämään timantin, josta IR-valo kohdistetaan näytteeseen. Spektrometriin on liitetty erillinen NIR-analysaattori (vasemmalla kuvassa 3), jolla mitataan aineiden pitoisuuksia. NIR-analysaattorissa on kaksi mittausvälinettä, NIR-pyörä ja pistooli. NIR-pyörään asetetaan kyveti (näytekuppi), jossa on näytettä niin, että kyvetin pohja peittyy. Laite pyörittää kyvetiä mittauksen ajan. Laite käyttää analysointiin hajaheijastusmenetelmää. Hajaheijastusmenetelmässä näytteen kohdistetaan IR-valoa, joka heijastuu näytteestä eri suuntiin. Spektrometrissä on sisällä integroiva pallo, joka kerää eri suuntiin heijastuneet säteet ilmaisimelle. Pistoolilla voidaan kohdistaa IR-valo suoraan näytteen ilman erillisiä mittausalustoja. NIR-pyörä on stabiilimpi mittaustapa, kuin pistooli, mutta pistoolia voidaan käyttää suoraan linjastossa. (Honkavirta, 2020)



Kuva 3. Nicolet iS50 FT-IR -spektrometri. (Hosmed, n.d.)

Nicolet iS50 FT-IR -spektrometri käyttää näytteiden mittaamiseen ja niistä saadun datan analysointiin OMNIC™ Specta -ohjelmistoa. OMNIC™ Specta -ohjelmisto luo siihen syötetystä datasta tietokannan. Tietokannan luomiseen se käyttää spektrin tunnistustyökaluja, tulkinta-algoritmeja sekä tieteellistä dokumentaatiota, joka indeksoi tiedot kovalevyille. Tietokannan avulla ohjelmisto tunnistaa näytteestä eri komponentit, joiden oikeilla pitoisuuksilla varmistetaan tuotteen kemiallinen laatu. (Thermo Scientific, n.d.b.)

Tilastollinen analyysi luodaan TQ Analyst -ohjelmalla. Kalibroitaessa TQ Analyst -ohjelmaan syötetään OMNIC™ Specta -ohjelmalla mitatut spektrit sekä kemiallisilla analyyseillä mitatut referenssitulokset. TQ Analyst -ohjelma antaa haluttujen komponenttien laskennallisen ja ennustetun pitoisuuden. Pienimmän neliösumman menetelmää (PLS) käytettäessä TQ Analyst -ohjelma laskee RMSEP- ja RMSEC-arvot. TQ Analyst -ohjelma luo myös PRESS-kaavion, josta saadaan RMSECV-arvo. Arvot on selitetty luvussa 5.3 Mallin validointi (ss. 16–17). (Honkavirta, 2020)

3 ANALYSOITAVAT MAITOTUOTTEET

Työssä tutkitaan eri maitotuotteita, kuten ravintorasvoja, juustoja ja happanmaitotuotteita. Maitotuotteet ovat kemialliselta koostumukseltaan monimutkaisia ja pienikin muutos komponenttien pitoisuuksissa voi vaikuttaa merkittävästi lopputuotteeseen. Maitotuotteiden kemiallisen koostumuksen mittaaminen on tärkeä osa lopputuotteen laadunvalvontaa.

3.1 Maidon koostumus

Maidosta noin 87 % on vettä ja loput 13 % kuiva-ainetta. Maidon kuiva-aine koostuu laktoosista, rasvasta, proteiineista ja mineraaleista. Raakamaidosta laktoosia on noin 4,8 %, rasvaa noin 3,9 %, proteiineja noin 3,4 % ja mineraaleja noin 0,8 %. Kuiva-aine on vedessä joko liuenneena, suspensiona tai emulsiona riippuen partikkelikoosta. Rasvapallon tyypillinen koko on noin 10^{-2} – 10^{-3} mm. Rasva muodostaa veden kanssa emulsion. Kaseiiniproteiinin halkaisija on 10^{-4} – 10^{-5} mm ja heraproteiinin 10^{-5} – 10^{-6} mm. Maidon proteiinit suspensioituvat veden kanssa. Laktoosin ja maidon mineraalien halkaisija on 10^{-6} – 10^{-7} mm ja ne liukenevat veteen. Maito sisältää A-, B-, C- ja D-ryhmä vitamiineja. (Bylund, 2003, Luku 2)

Maito on vaikeasti tutkittava raaka-aine, koska vuodenajat vaikuttavat raakamaidon koostumukseen. Suurin maidon koostumukseen vaikuttava tekijä on lehmän laktaatiokaudet. Laktaatiokausi alkaa vasikan syntymisen jälkeen ja se kestää yleensä 333 päivää, jonka jälkeen lehmä saatetaan umpeen. Laktaatiokauden aikana saatavan maidon määrä nousee ensin nopeasti ja laskee sen jälkeen vähitellen. Lisäksi maidon rasva- ja proteiinipitoisuus laskee nopeasti ja nousee sen jälkeen vähitellen. Maidon kemiallisten muutosten vaikutuksesta lehmien poikimista pyritään jakamaan ympäri vuotta, jotta eri lehmien laktaatiokaudet alkavat eri aikaan ja maidon laatu sekä tuotantomäärät pysyvät mahdollisimman tasaisena. Kuitenkin maidon koostumukseen vaikuttavat myös vuodenajat, rotujen väliset erot ja myös aamulla lypsetty maito eroaa iltamaidosta. Esimerkiksi jodin määrä on kesällä noin 30 % isompi kuin talvella, koska lehmät syövät ruohoa rehun sijaan. Jodi vaikuttaa maidon rasvaan tekemällä siitä pehmeämpää. (Tapaila, 2015; Bylund, 2003, Luku 2)

3.1.1 Laktoosi

Laktoosi ($C_{12}H_{22}O_{11}$) eli maitosokeri on hiilihydraatti, jota esiintyy ainoastaan maidossa. Maidossa on laktoosia 3,6–5,5 %. Laktoosi toimii maidon energialähteenä. Joillekin ihmisille laktoosi aiheuttaa ongelmia ruoansulatuksessa, jonka takia on kehitetty myös laktoositon maito. Laktoosi erotetaan maidosta joko suodattamalla tai entsymaattisesti hajottamalla. Laktoosin entsymaattisessa hajottamisessa käytetään laktaasientsyymejä, joka rikkoo laktoosin glukoosiksi ja galaktoosiksi. Tällä tavalla valmistettu laktoositon maito on makeampaa kuin normaali maito, koska glukoosi on huomattavasti makeampaa kuin laktoosi. Laktoosia käytetään hyödyksi hapattettujen maitotuotteiden valmistuksessa, jolloin laktoosi fermentoidaan maitohapoksi. (Bylund, 2003, Luku 2)

3.1.2 Rasva

Raakamaito sisältää rasvaa noin 4 %. Maitorasvat voidaan jakaa kolmeen ryhmään, joita ovat glyseridit eli varsinainen rasva (n. 98,5 %), fosfolipidit (n. 1 %) ja rasvaliukoiset ainekset (n. 0,1 %). Suurin osa rasvasta koostuu glyserideistä eli rasvapalloista. Rasvapallot ovat kooltaan keskimäärin 3,6 μ m. Glyserideihin kuuluu triglyseridit, diglyseridit ja monoglyseridit. Maidossa rasvahapot ovat aina sitoutuneena glyseridiin ja glyseridimolekyyliin voi maksimissaan sitoutua kolme rasvahappoa. Triglyseridiin on sitoutunut kolme rasvahappoa ja se on yleisin maidon glyseridi. (Tapaila, 2015)

Fosfolipidit eli yhdistelmälipidit ovat amfifiilisiä molekyylejä eli niillä on hydrofobinen pää, joka liukenee rasvaan ja hydrofiilinen pää, joka liukenee veteen. Maidossa ne esiintyvät rasvapallomembraanin pinnassa eli rasvan ja veden rajapinnassa. Fosfolipidit toimivat emulgaattoreina ja takaavat sen, että kaksi rasvapalloa ei voi yhdistyä. Viimeinen ryhmä eli rasvaliukoiset aineet ovat liuenneena rasvoin. Niitä ovat karoteeni (antaa rasvan keltaisen värin), flavorit ja rasvaliukoiset vitamiinit. (Tapaila, 2015)

Maitorasvan ominaisuudet määräytyvät rasvahappokoostumuksen perusteella. Esimerkiksi rasvahappojen sulamispiste vaihtelee rasvahappojen koon mukaan; mitä pidempi rasvahappo, sitä korkeampi sulamispiste. Sulamispisteeseen vaikuttaa myös, onko rasvahappo tyydyttynyt vai tyydyttymätön. Tyydyttymättömät rasvahapot johtavat alhaiseen sulamispisteeseen. Tästä syystä maitorasvalla ei ole sulamispistettä, vaan sulamisalue (-55–37 °C). Tyydyttyneissä rasvahapoissa hiiliatomit ovat kiinnittyneet toisiinsa yksinkertaisilla sidoksilla, kun taas tyydyttymättömissä rasvahapoissa on yksi tai useampia kaksoissidoksia. Maidon neljä yleisintä rasvahappoa ovat myristiinihappo, palmiinihappo, steariinihappo ja öljyhapot. Öljyhapot ovat huoneenlämmössä nesteitä ja loput kiinteitä. (Tapaila, 2015; Bylund, 2003, Luku 2)

Rasvapallot kermoutuvat eli nousevat maidon pintaan muodostaen kermakerroksen. Kermoutuminen johtuu rasvan ja plasman tiheyseroista sekä

kermaklustereiden muodostumisesta. Kermaklusterit muodostuvat, kun rasvapallosot joukkioituvat yhteen. Kermoutuminen ei ole haluttua ja sitä estetäänkin maidon homogenoimisella, jolloin rasvapallosten koko pienee. (Tapaila, 2015)

Elimistö tarvitsee rasvaa energian tuottamiseen, lämmöneristeeksi ja suojaamaan sisäelimiä. Elimistö ei pysty tuottamaan kaikkia tarvittavia rasvahappoja, joten ne on saatava ruoasta. Myös tärkeitä rasvaliukoisia vitamiineja saadaan rasvan kautta. Rasva on tärkeä tekijä ruoan maussa ja rakenteessa esim. hapatetuissa maitotuotteissa rasva pehmentää hapanta makua. (Tapaila, 2015)

Rasvan pilaantumiselle on kolme syytä: rasvan hajoaminen (lipolyysi), rasvan hapettuminen sekä metyyliketoneiden tai laktoneiden muodostuminen. Rasva hajoaa, kun lipaasientsyymi läpäisee rasvapallomembraanin esim. homogenoinnin yhteydessä. Hajoamisessa syntyy vapaita rasvahappoja, jotka maistuvat pahalle. Fosfolipidit ovat herkkiä hapettumiselle, joka johtaa virhemakuihin. Metyyliketonit ja laktonit muodostuvat joistakin rasvahapoista kuumentamalla ja ne tuottavat myös virhemakua. (Tapaila, 2015)

3.1.3 Proteiini

Proteiinit ovat tärkeä osa ruokavaliotamme. Proteiinit koostuvat aminohappoketjuista, jotka ovat noin 100–200:n toisiinsa kiinnittyneen aminohapon mittaisia. Ihmiskehossa aminohappoketjut hajoavat ja ne käytetään kehon rakennuspalikkoina. Aminohapot koostuvat aminoryhmästä (NH_2), karboksyyli ryhmästä (COOH) ja sivuryhmästä. Maidossa on satoja eri proteiineja, mutta kaksi yleisintä ovat kaseiini- ja heraproteiini. Sekä kaseiini, että heraproteiini voidaan jakaa eri alaluokkiin. (Tapaila, 2015; Bylund, 2003, Luku 2)

Kaseiinit muodostuvat α_{s1} -, α_{s2} -, β - ja κ -kaseiinista. Maidosta 2,6 % on kaseiinia. Kaseiinit muodostavat submisellejä eli kaseiinipalloja, joiden sisällä on hydrofobista kalsiumfosfaattia. Submisellit yhdistyvät toisiinsa ja niistä syntyy kaseiinimisellejä. Yhdessä kaseiinimisellisissä on yli 1000 kaseiiniproteiinia. Misellin keskimääräinen koko on 0,12 μm . Kaseiini saostuu, kun sen pH laskee alle 4,6. Kaseiinin saostumista käytetään hyödyksi juuston valmistuksessa. Kaseiini on rasvan ohella juuston pääkomponentti. (Tapaila, 2015)

Heraproteiinit muodostuvat α -laktalbumiinista, β -laktoglobuliinista, serumialbumiinista, immonoglobuliinista ja proteoosipeptonista. Maidosta 0,6 % on heraproteiineja. Toisin kuin kaseiinit, heraproteiinit eivät muodostu miselleiksi vaan ne liikkuvat maidossa yksittäin. Heraproteiini ei myöskään saostu pH:n muuttuessa. (Tapaila, 2015)

3.1.4 Mineraalit

Maito sisältää useita eri mineraaleja ja mineraalisuolat esiintyvät maitoseerumissa tai kaseiiniyhdisteissä. Maidon mineraalit ovat peräisin lehmien syömästä rehusta. Tärkeimmät suolat ovat kalsium, natrium, kalium, magnesium ja jodi. Eniten maidossa on kalium- ja kalsiumsuoloja. Suolat esiintyvät fosfaatteina, klorideina, sitraatteina ja kaseinaatteina. Suola antaa tuotteelle makua ja laskee sen jäätymispistettä. (Bylund, 2003, Luku 2)

3.2 Ravintorasvat

Voin maitorasvapitoisuuden on oltava 80–90 %, vesipitoisuuden enintään 16 % ja rasvattoman kuiva-aineen pitoisuus enintään 2 %. Margariinit sisältävät kasvi- ja eläinrasvaa, josta maitorasvan osuus on 0–3 %. Margariinin vesipitoisuus (18 %) on hieman korkeampi, kuin voin. Erilaiset rasvaseokset voin ja margariinin väliltä sisältävät maitorasvaa 10–80 %. Voin ja margariinin suolapitoisuus säädetään tyyppin mukaan. Normaalisuolaisen voin ja margariinin suolapitoisuus on 1,5 %. (Bylund, 2003, Luku 12)

Voita valmistetaan kirnuamalla tai jatkuvatoimisella voinvalmistusmenetelmällä. Ensin raakamaidosta separoidaan kerma, joka pastöroidaan korkeassa lämpötilassa, yleensä 95 °C:ssa. Pastöroinnin tehokkuutta mitataan peroksidaasitestillä. Jos peroksidaasitesti on negatiivinen, peroksidaasientsyymi on inaktivoitunut eli pastörointi on onnistunut. Pastöroinnin jälkeen kerma jäähdytetään 8 °C:seen ja siihen lisätään hapate. Tätä kutsutaan kerman lämpökäsittelyohjelman alkukiteytykseksi. Alkukiteytyksen jälkeen lämpötila nostetaan 20 °C:seen, jolloin kerma happanee ja rasvakiteet sulavat. Tämän jälkeen lämpötila lasketaan 16 °C:seen, jolloin kypsyminen ja aromin muodostus alkaa. Viimeisenä kerma jäähdytetään kirnuamislämpötilaan, minimissään 8 °C:seen. (Bylund, 2003, Luku 12)

Imelää voita tehtäessä hapatetta ei lisätä. Hapatteen tarkoitus on laskea kerman pH:ta ja täten parantaa kirnuavuutta ja vähentää haitallisten mikrobien kasvua. Hapate muodostaa myös maku- ja aromiaineita. Maitohappo, diasetyyli ja etikkahappo ovat tärkeimpiä hapatteen muodostamia aromiaineita. (Bylund, 2003, Luku 12)

Lämpökäsittelyohjelman jälkeen kerma kirnutaan. Kermaa kirnutessa syntyy vaahtoa proteiinista. Kirnuamista jatkettaessa vaahtokuplat pienenevät, kun niistä poistuu vettä ja paine kohdistuu rasvapalloihin. Rasvapallojen rakenne hajoaa ja niistä puristuu ulos nestemäistä rasvaa. Vaahto katoaa, voirakeisto syntyy ja vesiosa poistuu kirnupiimänä. Voirakeisto suolataan ja vaivataan, kunnes yhtenäinen rasvafaasi on muodostunut. Viimeisenä voi pakataan ja varastoidaan. (Bylund, 2003, Luku 12)

Jatkuvatoiminen voinvalmistusmenetelmä toimii samalla periaatteella kuin kirnuaminen, mutta nopeammin ja automaattisesti. Jatkuvatoiminen

voinvalmistuslaitteisto sisältää kermapumpun, kirnuamisosaston, erotteluosaston, vaivausosastoja ja voipumpun. (Bylund, 2003, Luku 12)

Erilaiset rasvaseokset valmistetaan lisäämällä kasviöljyä voihiin. Rasvaseokset voidaan valmistaa kirnuamalla tai jatkuvatoimisella voinalmistuslaitteistolla lisäämällä kasviöljy kerman joukkoon. Myös lisäämällä valmiin voihin sekaan kasviöljyä voidaan valmistaa rasvaseoksia. (Bylund, 2003, Luku 12)

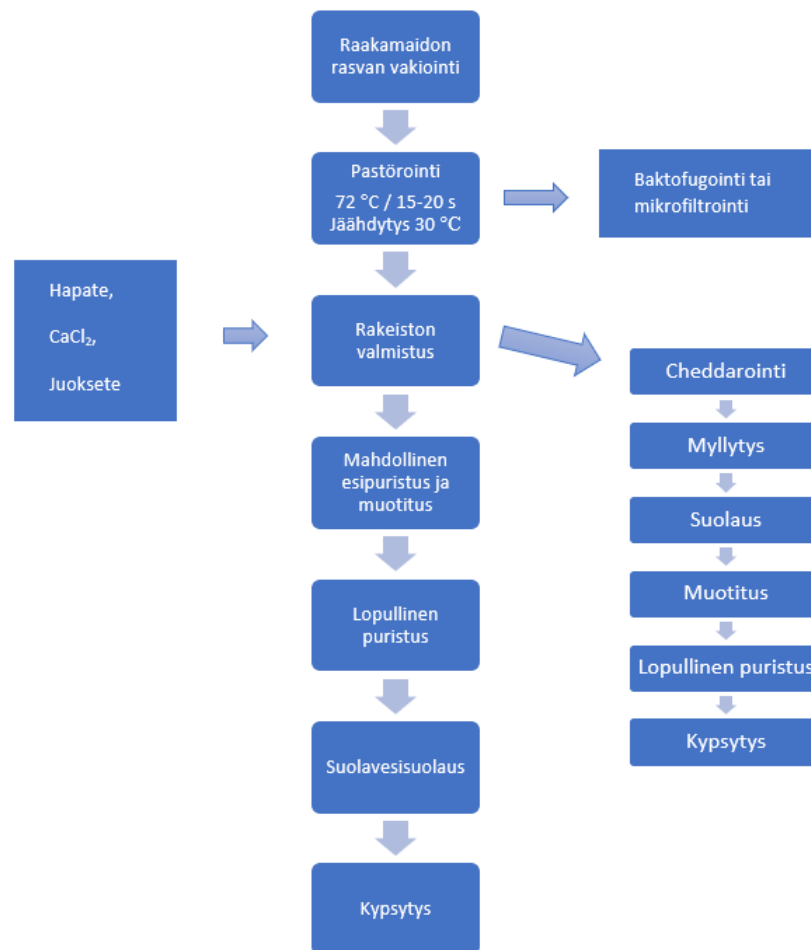
3.3 Juustot

Juuston kuiva-aine koostuu pääasiassa proteiinista (kaseiinista) ja rasvasta. Juuston valmistuksessa syntyvää jäännösnestettä kutsutaan heraksi. Juusto-käsitettä on vaikea määrittää, koska erilaisia juustoja on niin monia. Esimerkiksi juuston kosteus- ja rasvapitoisuudella voidaan määrittää eri kategoriat, kuten kovat, puolikovat ja pehmeät juustot (Taulukko 2). Mitä kovempi juusto, sitä vähemmän kosteutta. Juustoja luokitellaan myös kypsytystavan mukaan: kypsytetty, homekypsytetty sekä kypsytämätön juusto. Eri juustot sisältävät eri ominaisuuksia, kuten rakenne, maku ja ulkonäkö. Ominaisuuksiin vaikuttavat maidon tyyppi, bakteerien valinta sekä valmistustekniikka. (Bylund, 2003, Luku 14)

Taulukko 2. Juustojen luokittelu kosteus- ja rasvapitoisuuden mukaan (Bylund, 2003, Luku 14)

Rasvattoman osan kosteuspitoisuus (%)	Luokittelu	Kuiva-aineen rasvapitoisuus (%)
< 41	Extra kova	> 60
49-56	Kova	45-60
54-63	Puolikova	25-45
61-69	Puolipehmeä	10-25
> 67	Pehmeä	< 10

Juustojen valmistusprosessi sisältää useita päävaihteita, jotka ovat samantaisia useimmille juustotyypeille. Alla olevassa kuvassa 4 on esitetty kovan ja puolikovan juuston valmistusprosessin päävaiheet vuokaaviona.



Kuva 4. Valmistusprosessin vuokaavio kovalle ja puolikovalle juustoille. (Bylund, 2003, Luku 14)

Ensimmäiseksi juustomaidon rasvapitoisuus vakioidaan halutuksi, riippuen siitä, mitä juustoa valmistetaan. Haitallisten mikrobien vähentämiseksi juustomaito lämpökäsitellään sekä suodatetaan (mikrofiltrointi) tai separoidaan (baktofugointi). Juustomaitoon lisätään hapate, kalsiumkloridi (CaCl_2) ja juoksete. (Bylund, 2003, Luku 14)

Pehmeiden ja puolikovien juustojen valmistuksessa käytetään mesofiilisiä hapatteita ja kovien juustojen valmistuksessa termofiilisiä hapatteita. Hapateen tarkoitus on lisätä happamuutta, joka edesauttaa heran erottumista ja halutun rakenteen muodostumista juustoon. Hapate muodostaa myös hiilidioksidia juustomassaan, jonka seurauksena juustoon syntyy koloja. Pastöroinnin aikana juustomaidossa kalsium saostuu, joten lisäämällä CaCl_2 :a saadaan palautettua liukoisen kalsiumin määrää. Tällöin saostuminen parantuu. (Bylund, 2003, Luku 14)

Juoksete on entsyymi, jota voidaan saada mm. vasikanmahasta. Juoksetteen tehtävä on hydyttää maito kiinteäksi geeliksi. Juoksettunut maito leikataan halutun kokoisiksi kuutioiksi eli tehdään rakeisto ja hera erottuu. Hera erotetaan juustorakeistosta ja rakeisto muotitetaan. Muotit määrittävät juuston koon ja muodon ja ne on yleensä valmistettu muovista. Juusto puristetaan joko omalla painollaan tai lisäämällä painoa muotteihin. Erilaiset tekniikat juuston puristamisessa, suolaamisessa ja varastoinnissa määrittää juuston ominaisuudet. Lopuksi juustot päällystetään, kääritään tai pakataan. (Bylund, 2003, Luku 14)

3.4 Hapanmaitotuotteet

Hapanmaitotuotteet ovat maitohappokäymisellä valmistettuja maitotuotteita, kuten jogurtti, piimä, viili ja hapankermat. Hapanmaitotuotteet valmistetaan lisäämällä maitoon hapate ja kypsyttämällä. Maidon esikäsitteilyvaiheet riippuvat valmistetusta tuotteesta. Kypsytyslämpötila ja -aika riippuu tuotteesta ja siihen käytettävästä hapatteesta. Tuotteet voidaan kypsyttää kypsytystankeissa tai vasta pakkaamisen jälkeen pikareissa. (Bylund, 2003, Luku 11)

Osa laktoosista muuntuu maitohapoksi. Maito muuttuu happamaksi ja hyytyy mikro-organismien vaikutuksesta. Hapanmaitotuotteet säilyvät kauemmin kuin muut maitotuotteet, koska matala pH-arvo vähentää haitallisten mikrobien kasvua tuotteessa. Kypsytyksen jälkeen maito on jäähdytettävä nopeasti käymisprosessin lopettamiseksi. Jos käymisaika on liian lyhyt tai liian pitkä, tuotteen maku ja rakenne ei ole halutunlainen. (Bylund, 2003, Luku 11)

3.4.1 Jogurtti

Jogurtti on hapanmaitotuotteista tunnetuin. Jogurtin ominaisuudet vaihtelevat alueittain. Joillain alueilla jogurtti on pehmeää geeliä, kun taas toisissa se voi olla viskoosista nestettä. Jogurttia valmistetaan myös juomana ja jälkiruokana jäädytetyssä muodossa. Jogurtti valmistetaan lämpökäsitellyn ja homogenoituun maitoon. Sitä kypsytetään 43 °C:ssa noin kolme tuntia (Ruokatieto, n.d.). Jogurttia voidaan maustaa esimerkiksi hedelmillä ja marjoilla. Hedelmät ja marjat lisätään jogurttiin siirappina tai soseena ja yleensä niiden osuus on 15 %, joista 50 % on sokeria. Tyypillisen hedelmäjogurtin koostumus on kuvattu taulukossa 3. (Bylund, 2003, Luku 11)

Taulukko 3. Hedelmäjogurtin koostumus (Bylund, 2003, Luku 11)

Komponentti	%
Rasva	0.5-3.0
Laktoosi	3.0-4.5
Rasvaton kuiva-aine	11.0-13.0
Stabilointiaine (jos käytetty)	0.3-0.5
Hedelmä	12.0-18.0

3.4.2 Piimä

Piimä on suosittu, maitohappokäymisen avulla valmistettu juoma, jota käytetään myös leivonnassa. Piimä valmistetaan lämpökäsitellystä ja homogenoidusta maidosta. Piimän valmistusprosessi on samanlainen kuin jogurtin, mutta hapatteet ovat erilaiset. Piimää vaatii pitkän kypsytyksen, 18-20 tuntia, 20 °C:ssa (Ruokatieto, n.d.). Piimämaitoon voidaan lisätä D-vitamiinia. Piimän rasvapitoisuus vaihtelee 0–2,5 %:iin riippuen piimästä. (Korkee, 2010, ss. 2–4)

3.4.3 Viilit ja hapankermat

Viili valmistetaan lisäämällä viilimaitoon hapatteen lisäksi hometta. Viilimaitoa ei homogenoida, koska halutaan kerman nousevan pintaan. Home tekee kermakerrokselle samettisen pinnan. Viilit kypsytetään pikareissa, mikä edesauttaa kerman nousemista pintaan. Pikarit kypsytetään huoneenlämmössä noin vuorokauden ajan, kunnes pH on noin 4,6. Viilin rakenne poikkeaa muista hapanmaitotuotteista siten, että se on hyvin viskoosista ja venyvää. Viilejä valmistetaan eri rasvapitoisuuksilla: rasvaton viili 0 %, ykkösviili 1 %, kevytviili 2,2–2,5 %, perinteinen viili 3,5 % ja täyteläinen viili 4,3 %. Viilejä voidaan maustaa mm. mehulla tai hillolla. Mehuviilien hedelmäpitoisuus on yleensä 5 %. (Väistö, 2010, s. 10, 13; Valio, n.d.)

Hapankermat eli hapatetut kermavalmisteet hapatetaan kermahapatteella. Niihin kuuluvat kermaviilit, smetanat ja ranskankermat. Hapankeremoissa käytettävät maidot ja kermat lämpökäsitellään ja homogenoidaan. Kermaviili valmistetaan hapattamalla kermaa, joka sisältää 6–12 % rasvaa. Smetanakerma on rasvaisempaa, kuin kermaviiliin käytetty kerma. Se sisältää rasvaa 34–42 %. Ranskankerman valmistuksessa käytetään rasvaton maitoa ja kermaa. (Ruokatieto, n.d.)

3.5 Maidon komponenttien havaittavuus NIR-alueilla

Maidon rasva-, laktoosi- ja proteiinit voidaan havaita NIR-analysaattorin spektrissä välillä 700–1 100 nm. Maidon rasva absorboi IR-valoa voimakkaimmin välillä 930–1 092 nm, laktoosi voidaan havaita helpoiten välillä 734–1 064 nm ja proteiinit välillä 776–1 034 nm. Maitotuotteiden mineraaleja tai vitamiineja ei pystytä havaitsemaan NIR-analysaattorilla, koska niiden pitoisuudet ovat liian pieniä. (Tsenkova, Atanassova, Toyoda, Ozaki, Itoh & Fearn, 1999, ss. 2344–2351)

4 KEMIALLISET ANALYYSIT

Maitotuotteiden komponentteja mitataan kemiallisilla analyyseillä. Sairion opetusmeijerissä komponenttien mittaukseen käytetään eri analysointimenetelmiä kuten Gerber- ja Van Gulik -menetelmät sekä Mohrin titraus ja IR-kuivaus. Tässä kuvatut analysointimenetelmäohjeet on saatu Sairion opetusmeijerin kemianlaboratoriotunneilta (Tamminen, oppitunnit 28.1.2020).

4.1 Rasvapitoisuuden määrittäminen

Rasvapitoisuus määritetään Gerber- ja Van Gulik -menetelmillä. Menetelmät perustuvat siihen, että maidon proteiinit liuotetaan rikkihapolla ja fosfolipidit amyylialkoholilla. Rasva erotetaan yhdeksi faasiksi sentrifugin avulla. Tulokset luetaan painoprosentteina. Menetelmät ovat lähes samanlaisia, mutta niitä käytetään eri tuotteiden analysointiin. Gerber-menetelmää käytetään maidoille ja kermoille, joiden rasvapitoisuus on alle 8 %. Jos kerman rasvapitoisuus on yli 8 %, sitä laimennetaan tislatusella vedellä ja tuloksessa on otettava huomioon kerman ja maidon tiheysero. Van Gulik -menetelmällä analysoidaan juustoja, joiden rasvapitoisuus on 0–40 %.

Gerber-menetelmä aloitetaan valitsemalla näytteelle sopiva butyrometri. Maidoille, joiden rasvapitoisuus on 0–4 %, valitaan ns. tarkkuusbutyrometri. Kuoritulle maidolle valitaan butyrometri, jolla saadaan tuloksia 0–0,5 % rasvapitoisuusalueelta. Rasvapitoisuudeltaan alle 8 %:lle maidoille, kermoille ja hapanmaitotuotteille käytetään butyrometriä asteikolla 0–8 %.

Vetokaapissa butyrometreihin laitetaan 10 ml 91-prosenttista rikkihappoa. Näytettä pipetoidaan rikkihapon päälle 10,75 ml, siten etteivät aineet sekoitu. Näytteen päälle pipetoidaan 1 ml amyylialkoholia. Butyrometrit suljetaan Fibo-tulpilla. Kun näyte reagoi rikkihapon kanssa, syntyy lämpöä. Butyrometrit laitetaan suojaputkien sisään ja niitä käännellään, kunnes näyte on liuennut. Sen jälkeen butyrometrit sentrifugoidaan 350 g:n keskipakoisvoimalla 5 minuuttia. Sentrifugoinnin jälkeen butyrometrit laitetaan vesihauteeseen 65 °C:seen 5 minuutiksi, jonka jälkeen tulos luetaan butyrometrin mitta-asteikolta 0,1 %:n tarkkuudella.

Van Gulik-menetelmässä käytetään 0–40 %:n mitta-asteikon juustobutyrometrejä. Juustobutyrometrit ovat molemmista päistä auki ja niiden kanssa käytetään butyrometripikaria. Juustonäytteet on oltava raastettu. Juustoraastetta punnitaan 3 grammaa butyrometripikareihin, jotka kiinnitetään juustobutyrometreihin. Butyrometreihin lisätään 15 ml 65-prosenttista rikkihappoa ja ne laitetaan suljettuna vesihauteeseen 65 °C:seen. Vesihauhteessa olevia butyrometrejä ravistellaan välillä suojaputkessa, jotta näyte liukenee kokonaan. Kun näyte on liuennut kokonaan, butyrometriin lisätään 1 ml amyylialkoholia ja ravistellaan hyvin. Jos neste pinta ei yletä butyrometrin mitta-asteikolle, lisätään rikkihappoa. Butyrometrejä sekoitellaan suojaputkessa ja laitetaan vesihauteeseen 5 minuutiksi. Vesihauhteen jälkeen butyrometrit sentrifugoidaan 5-10 minuuttia 350 g:n keskipakoisvoimalla, jonka jälkeen rasvafaasin tulisi olla kirkas. Sentrifugoinnin jälkeen butyrometrit laitetaan 5-10 minuutiksi vesihauteeseen, jonka jälkeen tulos luetaan butyrometrin mitta-asteikolta.

4.2 Kuiva-ainepitoisuuden määrittäminen

Kuiva-ainepitoisuus määritetään infrapuna- eli IR-kuivauksella. IR-kuivaus perustuu näytteeseen kohdistuneen säteilyn aiheuttamaan molekyylivärähtelyyn, joka kuumentaa näytettä. Näytteen kuumentuessa sen sisältämä vesi haihtuu ja näytteen kyky absorboida säteilyä pienenee. (Demirci, Irudayaraj, Khwarana, Krishnamurthy & Soojin, 2008)

IR-kuivaus aloitetaan esilämmittämällä IR-kuivainta 30 minuuttia. Kun IR-kuivain on lämmennyt, asetetaan alumiinivuoka IR-vaakaan ja taarataan vaaka. Alumiini vuokaan sirotellaan 5 grammaa merihiekkaa tasaiseksi kerrokseksi. Merihiekan päälle punnitaan 1 g näytettä. Näytettä tiputetaan hiekalle tasaisesti tippoina (tai pieninä paloina) niin, että tippojen väliin jää kuivaa hiekkaa. Kuumennusosan kansi lasketaan varovasti alas.

Eri tuotteilla on erilaiset kuumennusajat ja -lämpötilat. Maidolla ja tuorejuustoilla aika on 10 minuuttia ja lämpötila 120 °C, kun taas kovilla juustoilla 8 minuuttia ja 160 °C. IR-kuivaimella voi määrittää myös näytteen kosteuspitoisuutta. IR-kuivaimesta on valittava oikeat asetukset riippuen

tuotteesta ja siitä, mitä tuloksia haluaa tietää. Kuivauksen jälkeen IR-kuivain ilmoittaa tulokset kahden desimaalin tarkkuudella.

4.3 Voin suola-, vesi- ja rasvapitoisuuden määrittäminen

Voin suolapitoisuus määritetään Mohrin titrauksella. Mohrin titrauksella saadaan näytteen natriumkloridipitoisuus painoprosentteina. Mohrin titrauksessa käytetään titrausliuoksena hopeanitraattia ja indikaattoriväriaineena kaliumkromaattia. Voin suolapitoisuus on tyypillisesti 0–2 %.

Mohrin titraus aloitetaan annostelemalla 5 grammaa näytettä erlenmeyerpulloon. Näytteistä tehdään rinnakkaisnäyte sekä nollanäyte tislattulla vedellä. Erlenmeyerpulloihin lisätään 100 ml kiehuvaa tislattua vettä. Seoksen annetaan seistä 10–15 minuuttia välillä sekoittaen, jotta näytteen suola liukenee veteen. Kun suola on liennut ja seokset ovat jäähtyneet 50–55 °C:seen, seokseen lisätään 2 ml 5-prosenttista kaliumkromaattiliuosta. Näytteitä titrataan 0,1 M hopeanitraatilla välillä sekoittaen, kunnes näytteen väri muuttuu punaruskeaksi. Näytteisiin kuluneet hopeanitraatin määrät kirjataan ylös. Suolapitoisuus lasketaan kaavalla 2.

$$\text{Suolapitoisuus (NaCl)\%} = \frac{5,85 * t * (v - v_0)}{a} \quad (2)$$

jossa

5,85 = 58,45 g/mol * 100 % * 10⁻³ l

t = hopeanitraatin pitoisuus, mol/l

v = näytteeseen kulunut hopeanitraatin määrä, ml

v₀ = nollanäytteeseen kulunut hopeanitraatin määrä, ml

a = alkuperäisen näytteen määrä, g

Voin vesipitoisuus määritetään gravimetrisellä menetelmällä eli painoanalyyysillä. Voin vesipitoisuus on voinäytteen painon aleneminen painoprosentteina. Näytteille tehdään aina rinnakkaisnäyte ja rinnakkaismääritykset saavat erota korkeintaan 0,3 %. Voin vesipitoisuus saa olla enimmillään 16 %.

Ensin punnitaan alumiinikupit, jotka on kuivattu lämpökaapissa ja jäähdytetty eksikaattorissa. Alumiinikuppeja siirretään pihdeillä tai atuloilla (ei käsin). Vaaka taarataan ja alumiinikuppiin punnitaan noin 10 grammaa näytettä. Kaikki punnitustulokset kirjataan ylös. Alumiinikupit nostetaan lämpölevyille, joiden lämpötilat nostetaan 65 °C:seen. Kuppeja liikutellaan pyöriä liikkein pihdeillä. Kun lämpötila nostetaan 100 °C:seen voisula alkaa vaahdota ja rätistä. Haihdutusta jatketaan pikkuhiljaa lämpötilaa nostamalla, kunnes vaahdotusta enää lisää ja kupin pohjalle syntyy tummanruskeaa sakkaa. Tällöin lämpötila on noin 170 °C. Alumiinikupit nostetaan jäähtymään. Kun kupit ovat jäähtyneet, ne punnitaan ja punnitustulokset kirjataan ylös. Kupit nostetaan takaisin lämpölevyille ja lämpötila

nostetaan hiljalleen noin 160–180 °C:seen. Sen jälkeen kupit nostetaan jäähtymään ja punnitaan uudestaan. Punnitustulokset ei pitäisi juuri muuttua. Vesipitoisuus prosentteina lasketaan kaavalla 3.

$$\text{vesipitoisuus (\%)} = 100 * [(A + B) - C] / B \quad (3)$$

jossa

A = tyhjän alumiinikupin paino (g)

B = alkuperäisen näytteen paino (g)

C = haihdutuksen jälkeen kupin ja näytteen paino (g)

Voin rasvapitoisuus saadaan laskennallisesti kaavalla 4. Voissa on oltava maitorasvaa 80–90 % ja sen laskennallinen kuiva-aine on maksimissaan 2 %.

$$\text{rasvapitoisuus (\%)} = 98 \% - A - B \quad (4)$$

jossa

A = voin vesipitoisuus (%)

B = voin suolapitoisuus (%)

5 REGRESSIOANALYYSI

Regressioanalyysi on tilastollinen analyysimenetelmä, jonka avulla luodaan matemaattinen malli, jossa X-muuttujien avulla voidaan ennustaa selitettävän Y-muuttujan arvoja. Regressiomalli esitetään yleensä suorana, jonka määrittämiseen käytetään pienimmän neliösumman menetelmää (PLS = Partial Least Squares). (Holopainen, Nummenmaa & Pulkkinen, 2017, s. 263)

5.1 Pienimmän neliösumman menetelmä

Pienemmän neliösumman menetelmän (PLS) avulla löydetään malli, jolla selitetään hajontakuvion pistejoukkoa. Jokaiselle Y-muuttujan arvolle y_i voidaan mallin avulla ennustaa arvo \hat{y}_i . Ennuste saattaa poiketa todellisista Y-muuttujan arvoista ja poikkeamista ($y_i - \hat{y}_i$) käytetään nimeä jäännöstermit ja merkintää e . Malli määritetään siten, että neliöityjen jäännöstermien summa (Kaava 5, s. 15) olisi mahdollisimman pieni. Jäännöstermit on neliöitävä, jotta negatiivisten ja positiivisten arvojen summat eivät kumoaisi toisiaan. (Holopainen ym., 2017, s. 238)

$$\text{Min } \sum (y_i - \hat{y}_i)^2 = \text{Min } \sum e_i^2 \quad (5)$$

5.2 Lineaarinen regressioanalyysi

Tilastollinen mallintaminen voidaan tehdä, jos tilastoaineiston muuttujilla havaitaan yhtenäisyyttä. Aineistosta tehdään hajontakuviot, josta etsitään säännönmukaisuutta. Selittäväksi muuttujaksi valitaan X-muuttuja ja selitettäväksi muuttujaksi valitaan Y-muuttuja. Jos selitettäviä muuttujia on useampia kuin yksi, merkitään X_1, X_2, \dots, X_n , jossa n on muuttujien lukumäärä. Yleisin regressiomalli on regressiosuora, joka kertoo kahden muuttujan välisestä lineaarisesta yhteydestä. Regressiomallin yhtälö on esitetty kaavassa 6. (Holopainen ym., 2017, s. 237)

$$\hat{y} = b_0 + b_1 * x \quad (6)$$

jossa

\hat{y} = Y-muuttujan ennustettu arvo

b_0 = regressiosuoran vakiotermi

b_1 = regressiokerroin

x = X-muuttujan arvo

Regressiosuoran vakiotermi b_0 kertoo, missä suora leikkaa y-akselin (Kaava 7) ja regressiokerroin b_1 ilmaisee suoran kulmakertoimen (Kaava 8). X- ja Y-muuttujien havaintoarvoista saadaan havaintopareja $(x_1, y_1), (x_2, y_2), \dots, (x_n, y_n)$. (Holopainen ym., 2017, s. 239)

$$b_0 = \frac{\sum y_i - b_1(\sum x_i)}{n} = \bar{y} - b_1 \bar{x} \quad (7)$$

$$b_1 = \frac{n(\sum x_i y_i) - (\sum x_i)(\sum y_i)}{n(\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2} \quad (8)$$

5.3 Mallin validointi

Validointi on monimuuttujamallin toimivuuden testaus. Validointi on tärkeää, jotta voidaan varmistaa luodun mallin toimivuus tulevaisuudessa vastaaville tietojoukoille. Validointia voi käyttää myös optimaalisen mittasuhteen löytämiseksi monimuuttujamallille. Monimuuttujamallin laadun varmistamiseksi määritetään kalibroinnin keskimääräinen neliövirhe, ennustuksen neliövirhe sekä neliövirheen ristiinvalidointi. Näistä käytetään niiden englannin kielisiä lyhenteitä RMSEC (Root Mean Square Error Calibration), RMSEP (Root Mean Square Error Prediction) ja RMSECV (Root Mean Square Error Cross Validation). (Esbensen, Guyot, Westad & Houmoller, 2002, ss. 155–158)

5.3.1 Kalibroinnin keskimääräinen neliövirhe RMSEC

Ensimmäisenä luodaan malli, joka perustuu arvoihin X_{cal} ja Y_{cal} . Oletetaan, että komponenttien A optimaalinen määrä tiedetään. X_{cal} arvot syötetään malliin, jonka avulla ennustetaan \hat{y}_{cal} (Kaava 9). (Esbensen, ym., 2002, s. 157)

$$X_{cal} + Model \rightarrow \hat{y}_{cal} \quad (9)$$

Vertaamalla ennustettuja ja mitattuja Y_{cal} -arvoja saadaan mallinnusvirheen lauseke (Kaava 10). Tämä laskutoimitus tehdään jokaiselle kohteelle. (Esbensen, ym., 2002, s. 157)

$$modeling\ error = \hat{y}_{cal} - y_{cal} \quad (10)$$

Kalibroinnin residuaali Y-varianssilla saadaan yhteenlaskemalla poikkeamien neliöt ja jakamalla se kohteiden lukumäärällä n. (Kaava 11) (Esbensen, ym., 2002, s. 157)

$$Residual\ variance_{cal} = \frac{\sum (\hat{y}_{cal} - y_{cal})^2}{n} \quad (11)$$

Residuaalivarianssin neliöjuuresta saadaan kalibroinnin keskimääräinen neliövirhe eli RMSEC-arvo. (Kaava 12) (Esbensen, ym., 2002, ss. 157–158)

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_{i,cal} - y_{i,cal})^2}{n}} \quad (12)$$

Jos kaikki potentiaaliset komponentit on käytetty mallinnuksessa, RMSEC-arvoksi tulee 0. Jos ainoastaan A komponentteja on käytetty, $A < \min(n,p)$ RMSEC on hyvä virheen mittari. Kalibroinnissa RMSEC-arvo halutaan mahdollisimman pieneksi. (Esbensen, ym., 2002, s. 158)

5.3.2 Ennustuksen neliövirhe RMSEP

Malliin lisätään validoinnin testisarjasta X_{val} -arvot ja ennustetaan todelliset \hat{y}_{val} -arvot. Testisarjasta saatuja arvoja X_{val} ja Y_{val} ei ole käytetty kalibroinnissa. (Kaava 13). (Esbensen, ym., 2002, s. 158)

$$X_{val} + Model \rightarrow \hat{y}_{val} \quad (13)$$

Vertaamalla ennustettuja ja mitattuja Y_{val} -arvoja saadaan virhe-estimaatin lauseke (Kaava 14). Tämä laskutoimitus tehdään jokaiselle kohteelle. (Esbensen, ym., 2002, s. 158)

$$prediction\ error = \hat{y}_{val} - y_{val} \quad (14)$$

Validoinnin residuaali Y-varianssilla saadaan yhteenlaskemalla poikkeamien neliöt ja jakamalla se kohteiden lukumäärällä n . (Kaava 15) (Esbensen, ym., 2002, s. 158)

$$\text{Residual variance}_{val} = \frac{\sum (\hat{y}_{val} - y_{val})^2}{n} \quad (15)$$

Validoinnin residuaalivarianssin neliöjuuresta saadaan ennustuksen neliövirhe eli RMSEC-arvo. (Kaava 16) (Esbensen, ym., 2002, ss. 158–159)

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i:l}^n (\hat{y}_{i,val} - y_{i,val})^2}{n}} \quad (16)$$

RMSEP-arvo kuvaa tulevien ennustuksien virheen kesiarvoa. Ennustetut Y-arvot voidaan antaa estimoidulla tarkkuudella $2 \times RMSEP$. (Esbensen, ym., 2002, ss. 203–204)

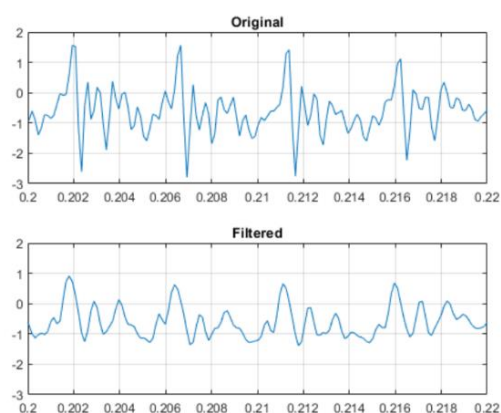
5.3.3 Virheen residuaalin neliösumma PRESS-kaavio

PRESS-kaavio eli virheen residuaalin neliösumma on PLS-regressiossa käytettävä ristiinvalidoinnin muoto. PRESS on lyhenne englannin kielen sanoista Predicted Residual Error Sum of Squares. (Kaava 17) (Esbensen, ym., 2002, ss. 208–209)

$$PRESS = \sum (\hat{y}_i - y_i)^2 \quad (17)$$

5.3.4 Datan tasoittaminen

Signaali, jonka taajuusväli on suuri, voidaan tasoittaa erilaisilla filttareilla. Dataa tasoitetaan esimerkiksi Savitzky-Golay -filtterillä (Kuva 5). (MathWorks, n.d.)



Kuva 5. Alkuperäinen signaali ja Savitzky-Golay -filtterillä tasoitettu signaali. (MathWorks, n.d.)

6 TYÖN TOTEUTUS JA TULOKSET

Maitotuotteista mitattiin rasva- ja kuiva-aine-/vesipitoisuuksien referenssitulokset kemian analyysimenetelmillä. Tuotteista mitattiin NIR-analysaattorilla OMNIC™ Specta -ohjelmalla spektrit. Referenssitulosten ja spektrien avulla saatiin lineaarinen regressioanalyysi TQ Analyst -ohjelmalla.

TQ Analyst -ohjelmassa mittausten mallintamiseksi valittiin PLS-regressio menetelmä. Menetelmään kirjattiin, mitä pitoisuuksia halutaan mitata ja näille valittiin yksiköksi prosentti. Kun parametrit oli asetettu, menetelmän tietokantaan ladattiin OMNIC™ Specta -ohjelmalla mitatut spektrit ja syötettiin analyysimenetelmillä saadut referenssitulokset. Datan formaatiksi valittiin derivatiivinen menetelmä, koska oli tarkoitus määrittää sidoksien absorbanssia. Spektrin kolinearisuutta vähennettiin käyttämällä suodatimia, joista vaihtoehtoina oli Savitzky-Golay -filtri ja Norrisin derivaatta. Suodatin valitsee pois ne aallonpituudet, jotka vääristävät kalibroinnin tulosta. Kalibroinnin jälkeen ohjelma loi regressiomallin. Regressiomallista selvisi RMSEC-arvo ja PRESS-kaaviosta RMSECV-arvo. Ohjelma antoi myös laskennalliset ja ennustetut pitoisuudet maitotuotteille.

Työssä ei käytetty validoinnin testisarjaa, joten ennustuksen neliövirhe (RMSEP) arvioidaan käyttämällä PRESS-kaavion ristiinvalidoinnista saatua RMSECV-arvoa (mittauksen virhe-estimaatti). PRESS-kaavio kuvaa mallin laatua ja antaa RMSECV-arvon kaikille kalibroinnin muuttujille, ja valitsee niistä parhaan.

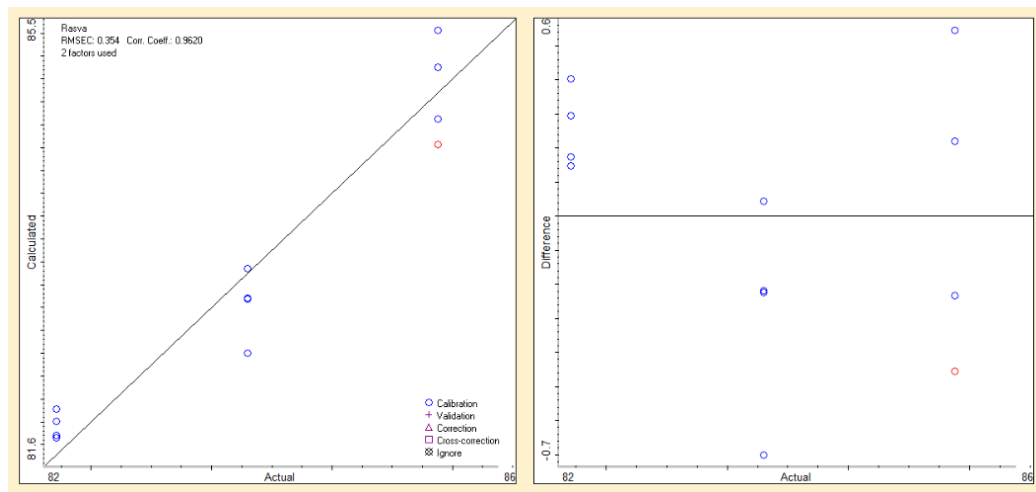
Regressiomalli on hyvä silloin, kun korrelaatiokerroin on lähellä 1 ja RMSEC-arvo sekä muuttujien enimmäispoikkeama suorasta mahdollisimman pieni. Kun korrelaatiokerroin on 1, muuttujien välillä on täydellinen lineaarinen riippuvuus. Referenssituloksia ja NIR-analysaattorin antamia tuloksia vertaamalla poikkeamien keskiarvotavoite on <0,2.

6.1 Ravintorasvat

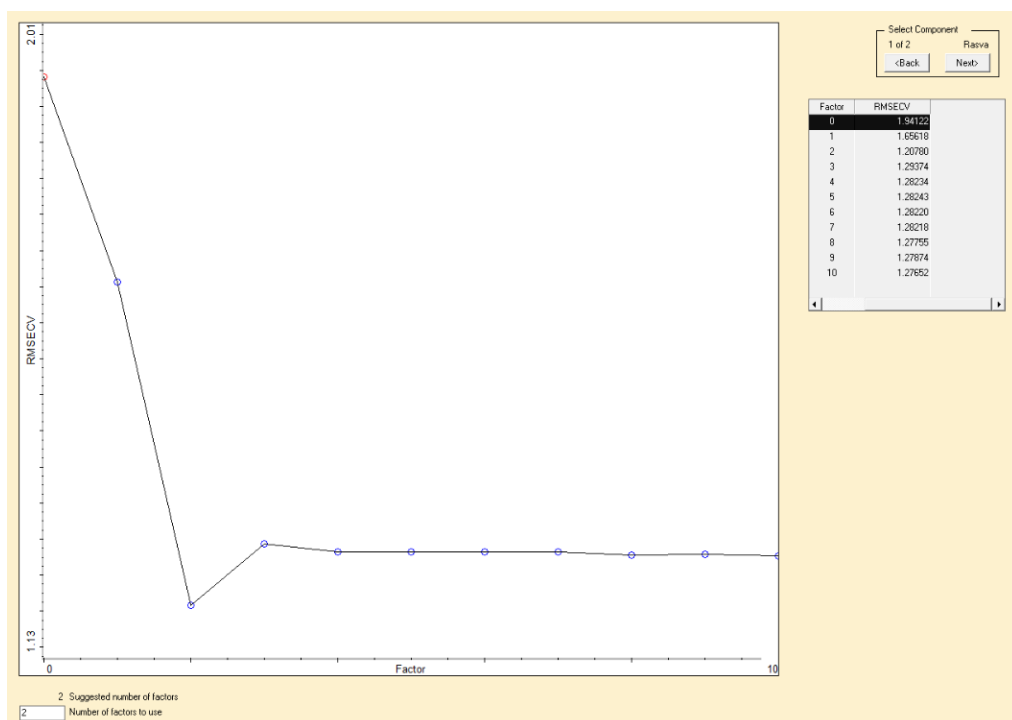
Ravintorasvoja analysointiin vain kolmea eri laatua, joten kalibrointi jäi rasvojen osalta aivan kesken. Ravintorasvojen rasvapitoisuuksien referenssiarvot laskettiin vesipitoisuuden ja suolapitoisuuden avulla (Kaava 4, s. 18). Rasvapitoisuudet olivat välillä 81,71–84,88 %. Ravintorasvojen suolapitoisuus oli vakioitu 1,5 %:iin. NIR-analysaattorilla analysointiin käytettiin pistoolia. Ravintorasvojen rasvapitoisuuden referenssiarvot ja NIR-analysaattorin laskemat arvot on ilmoitettu liitteessä 1 taulukossa 4 (s. 40).

TQ Analyst -ohjelman luoma regressiomalli ravintorasvojen rasvapitoisuuksille on esitetty kuvassa 6 (s. 23). Regressioanalyysissa kalibroinnin virhe-estimaatiksi eli RMSEC-arvoksi saatiin 0,354, korrelaatiokertoimeksi

0,9620 ja enimmäispoikkeamaksi 0,7. Ohjelma käyttää mallissa kahta muuttujaa, jolloin PRESS-kaaviosta (Kuva 7) saatiin mittauksen virhe-estimaatiksi (RMSECV) 1,21.



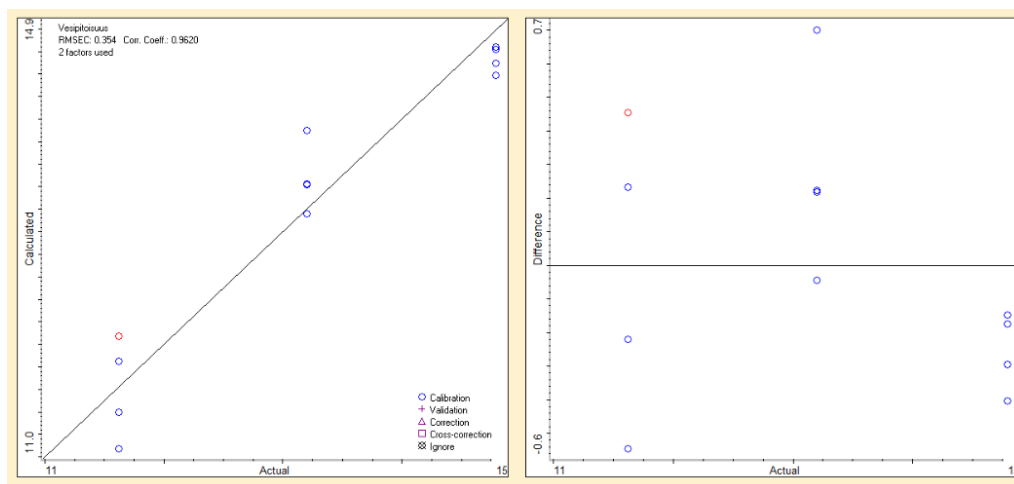
Kuva 6. Ravintorasvojen rasvapitoisuuksien regressiomalli.



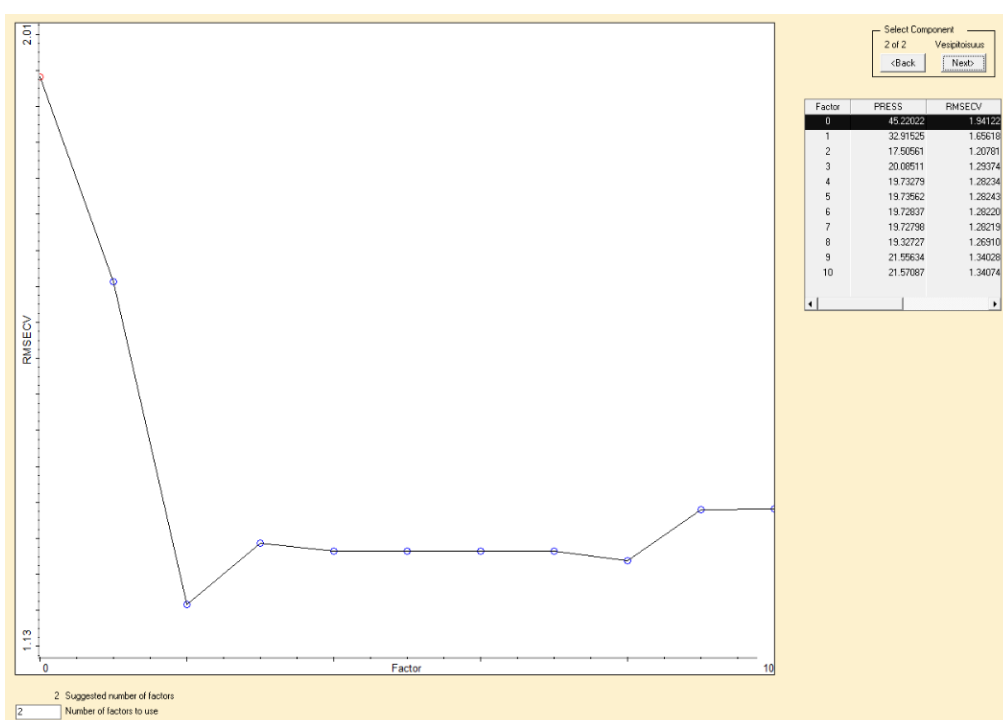
Kuva 7. Ravintorasvojen rasvapitoisuuksien PRESS-kaavio.

Rasvojen referenssinäytteiden vesipitoisuudet selvitettiin painoanalyyysillä (Kaava 3, s. 18). Vesipitoisuudet olivat välillä 11,6–14,8 %. NIR-analysaattorilla analysointiin käytettiin pistoolia. Ravintorasvojen vesipitoisuuden referenssiarvot ja NIR-analysaattorin laskemat arvot on ilmoitettu liitteessä 1 taulukossa 5 (s. 40).

Vesipitoisuuksien regressiomalli on esitetty kuvassa 8. Regressioanalyysissä kalibroinnin virhe-estimaatiksi eli RMSEC-arvoksi saatiin 0,354, korrelaatiokertoimeksi 0,9620 ja enimmäispoikkeamaksi 0,7. Ohjelma käyttää mallissa kahta muuttujaa, jolloin mittauksen virhe-estimaatiksi (RMSECV) saatiin PRESS-kaaviosta 1,21 (Kuva 9).



Kuva 8. Ravintorasvojen vesipitoisuuksien regressiomalli.



Kuva 9. Ravintorasvojen vesipitoisuuksien PRESS-kaavio.

Regressiomallilla saadut arvot olivat samat rasva- ja vesipitoisuutta tarkastellessa. Molempien pitoisuuksien mittaamisen kalibrointisarjan korrelaatiokertoimet (0,9620) olivat hyviä. RMSEC-arvot (0,354) ja muuttujien enimmäispoikkeamat suoralta (0,7) olivat haluttua suurempia. Tähän vaikutti näytteiden liian pieni otoskoko. PRESS-kaavion piirtämien käyrien

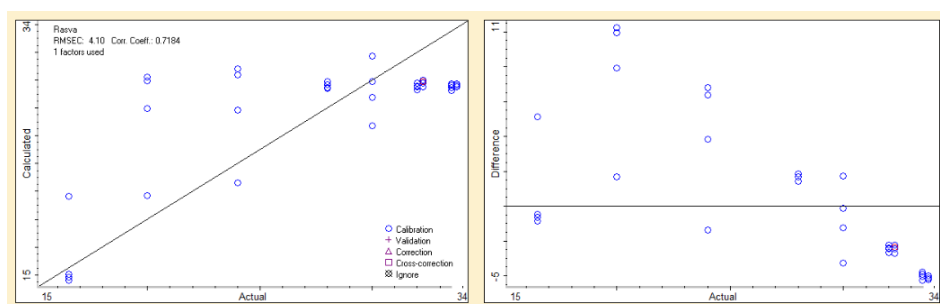
pitäisi olla logaritmisesti laskevia, jota ne eivät ole. Referenssituloksia ja NIR-analysaattorin antamia tuloksia vertaamalla saatiin poikkeamien keskiarvoksi 0,18 (Liite 1 taulukko 4 & 5, s. 40). Poikkeaman tavoitteeksi oli asetettu 0,2, joten tavoitteeseen päästiin mittaustulosten poikkeaman osalta.

6.2 Juustot

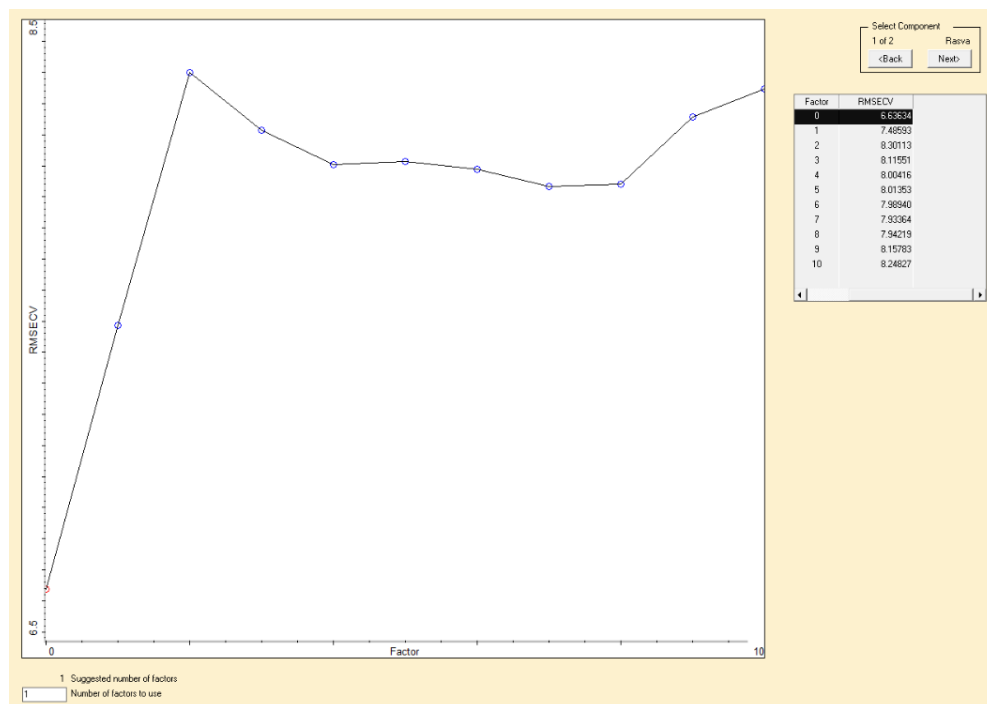
Juustonäytteitä analysoitiin yhdeksästä eri juustosta, joka on liian vähän luotettavan kalibrointisarjan luomiseksi. Juustojen referenssinäytteiden rasvapitoisuuden analysointiin käytettiin Van Gulik -menetelmää (Luku 4.1, s. 16). Rasvapitoisuudet olivat välillä 16,5–33,8 %. NIR-analysaattorilla analysoinnissa käytettiin NIR-pyörää. Juustojen rasvapitoisuuden referenssiarvot ja NIR-analysaattorin laskemat arvot on ilmoitettu liitteessä 2 taulukossa 6 (s. 41).

Juustojen rasvapitoisuuden regressiomalli on esitetty kuvassa 10. Regressioanalyysissa kalibroinnin virhe-estimaatiksi eli RMSEC-arvoksi saatiin 4,10, korrelaatiokertoimeksi 0,7184 ja enimmäispoikkeamaksi 11. Ohjelma käyttää mallissa yhtä muuttujaa, jolloin PRESS-kaaviosta (Kuva 11, s. 26) saatiin mittauksen virhe-estimaatiksi (RMSECV) 7,49.

Juustojen rasvapitoisuuden kalibrointisarjan korrelaatiokerroin (0,7184) jäi liian alhaiseksi ja RMSEC-arvo (4,10) sekä enimmäispoikkeama (11) olivat liian suuria. PRESS-kaavion käyrä ei ole logaritmisesti laskeva. Referenssituloksia ja NIR-analysaattorin antamia tuloksia vertaamalla poikkeamien keskiarvoksi saatiin 3,17 (Liite 2/1 taulukko 6, s. 41), joka ylittää tavoitteen (0,2).



Kuva 10. Juustojen rasvapitoisuuksien regressiomalli.

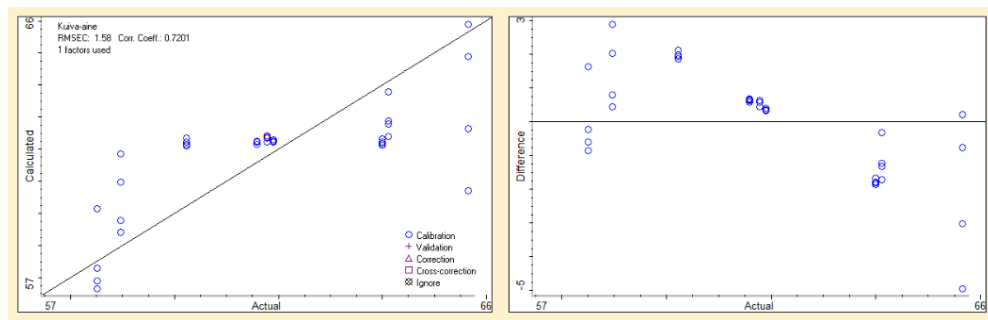


Kuva 11. Juustojen rasvapitoisuuksien PRESS-kaavio.

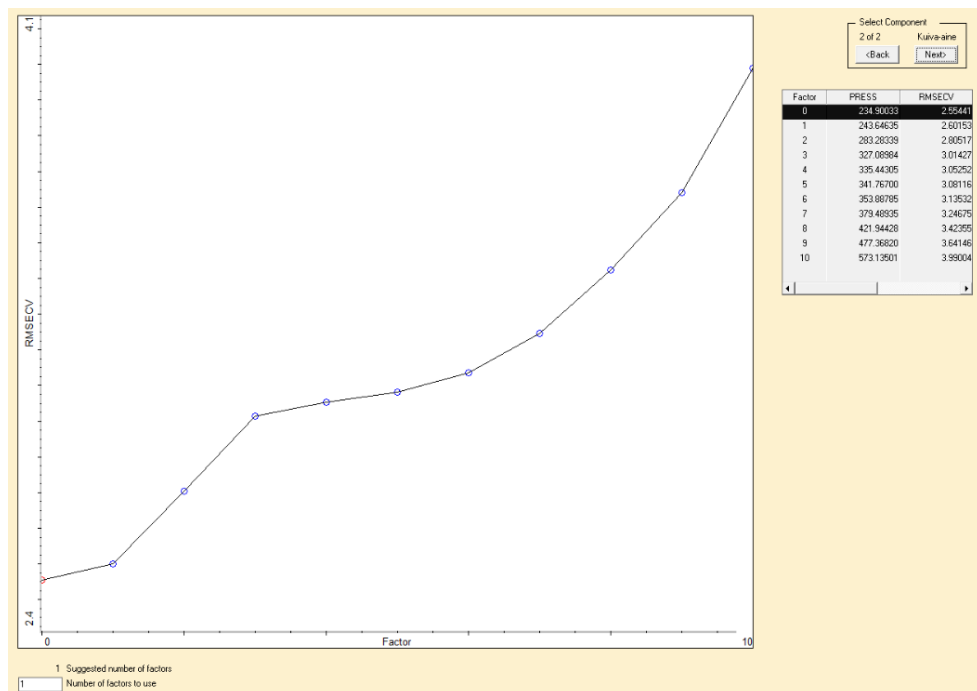
Juustojen referenssinäytteiden kuiva-ainepitoisuuden analysointiin käytettiin IR-kuivainta (Luku 4.2, ss. 16–17). Kuiva-ainepitoisuus vaihteli välillä 58,5–65,7 %. NIR-analysointia käytettiin NIR-pyörää. Juustojen kuiva-ainepitoisuuden referenssiarvot ja NIR-analysointin laskemat arvot on ilmoitettu liitteessä 2 taulukossa 7 (s. 42).

Kuiva-ainepitoisuuksien regressiomalli on esitetty kuvassa 12 (s. 27). Regressioanalyysissä kalibroinnin virhe-estimaatiksi eli RMSEC-arvoksi saatiin 1,58, korrelaatiokertoimeksi 0,7201 ja enimmäispoikkeamaksi 3. Ohjelma käyttää yhtä muuttujaa, jolloin mittauksen virhe-estimaatiksi saadaan PRESS-kaaviosta 2,6 (Kuva 13, s. 27).

Juustojen kuiva-ainepitoisuuden kalibroitisarjan korrelaatiokerroin (0,7201) jäi liian alhaiseksi ja RMSEC-arvo (1,58) sekä enimmäispoikkeama (3) olivat liian suuria. PRESS-kaavion käyrä ei ole logaritmisesti laskeva. Referenssituloksia ja NIR-analysointin antamia tuloksia vertaamalla poikkeamien keskiarvoksi saatiin 1,13 (Liite 2/2 taulukko 7, s. 42), joka ylittää tavoitteen (0,2).



Kuva 12. Juustojen kuiva-ainepitoisuuksien regressiomalli.



Kuva 13. Juustojen kuiva-ainepitoisuuksien PRESS-kaavio.

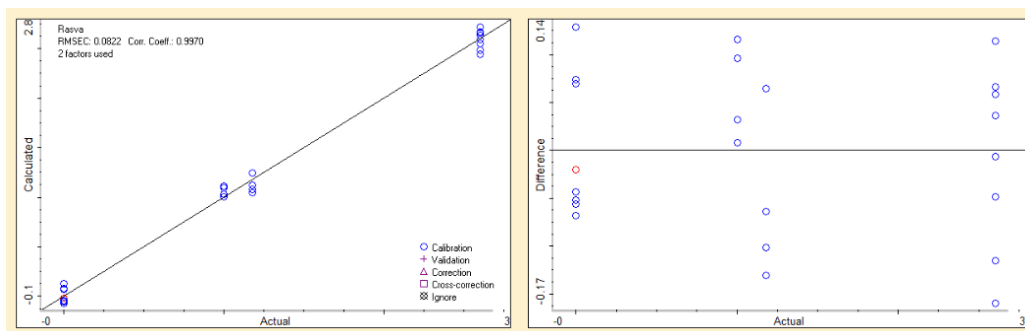
6.3 Jogurtit

Analyysejä tehtiin kuudesta eri jogurtista. Määrä on liian vähäinen luotettavan kalibrointisarjan luomiseksi. Jogurttien referenssinäytteiden rasvapitoisuuden analysointiin käytettiin Gerber-menetelmää (Luku 4.1, ss. 15–16). Rasvapitoisuudet olivat välillä 0–2,6 %. NIR-analysaattorilla analysointiin käytettiin pistoolia. Jogurttien rasvapitoisuuden referenssiarvot ja NIR-analysaattorin laskemat arvot on ilmoitettu liitteessä 3 taulukossa 8 (s. 43).

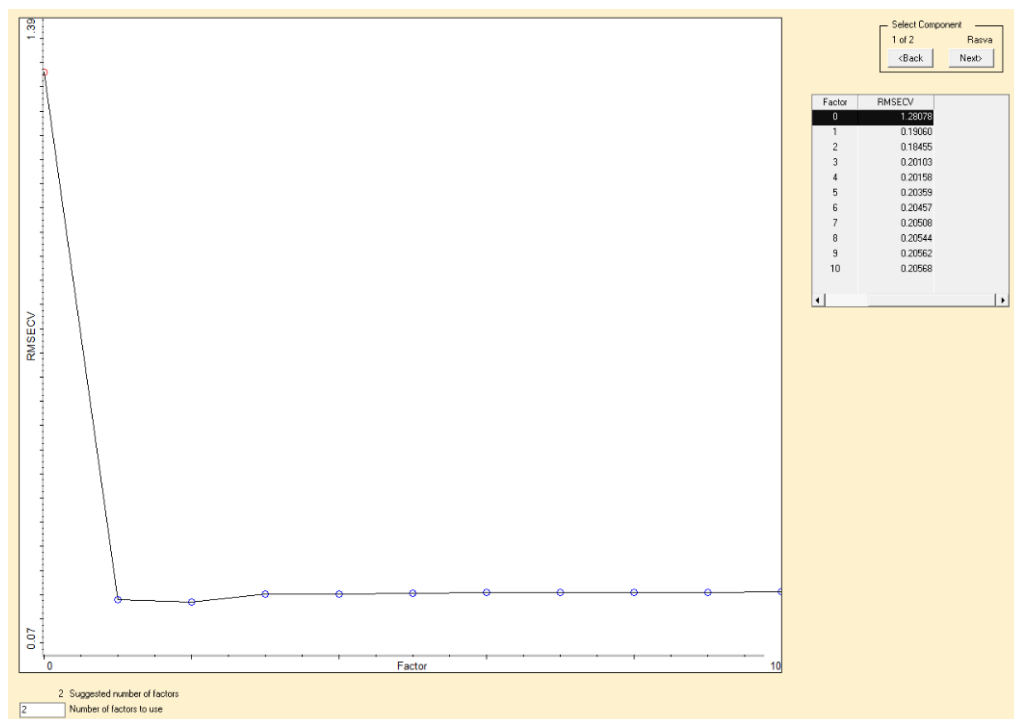
Jogurttien rasvapitoisuuksien regressiomalli on esitetty kuvassa 14 (s. 28). Regressioanalyysissä kalibroinnin virhe-estimaatiksi eli RMSEC-arvoksi saatiin 0,0822, korrelaatiokertoimeksi 0,9970 ja enimmäispoikkeamaksi 0,17. PRESS-kaaviosta (Kuva 15, s. 28) saadaan kahdella muuttujalla mittauksen virhe-estimaatiksi (RMSECV) 0,18.

Jogurttien rasvapitoisuuden kalibrointisarjassa RMSEC-arvo (0,0822), korrelaatiokerroin (0,997) ja enimmäispoikkeama (0,14) olivat hyviä. PRESS-

kaavion käyrä oli hyvä, mutta ei täydellinen. Referenssituloksia ja NIR-analysaattorin antamia tuloksia vertaamalla saadaan poikkeamien keskiarvoksi 0,04, joka oli tavoitteen mukainen.



Kuva 14. Jogurttien rasvapitoisuuksien regressiomalli.



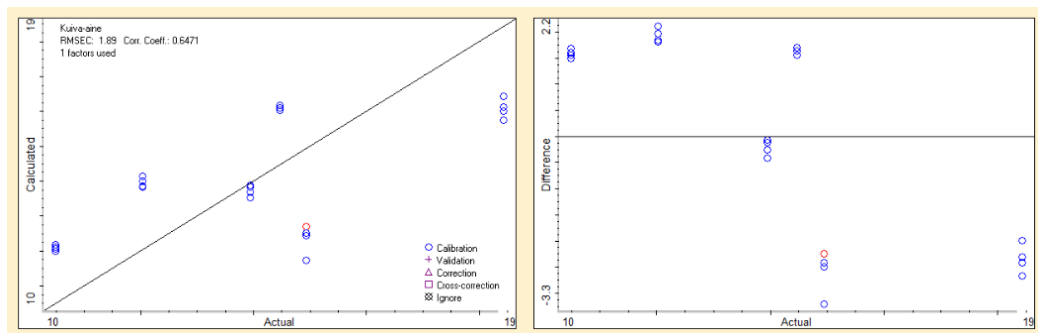
Kuva 15. Jogurttien rasvapitoisuuksien PRESS-kaavio.

Jogurttien referenssinäytteiden kuiva-ainepitoisuuden analysointiin käytettiin IR-kuivainta (Luku 4.2, ss. 16–17). IR-kuivaimen rinnakkaistulokset heittelivät, joten niitä ei voida pitää luotettavina. Kuiva-ainepitoisuuden vaihtelivat välillä 12,08–16,11 %. NIR-analysaattorilla analysointiin käytettiin pistoolia. Jogurttien kuiva-ainepitoisuuden referenssiarvot ja NIR-analysaattorin laskemat arvot on ilmoitettu liitteessä 3 taulukossa 9 (s. 43).

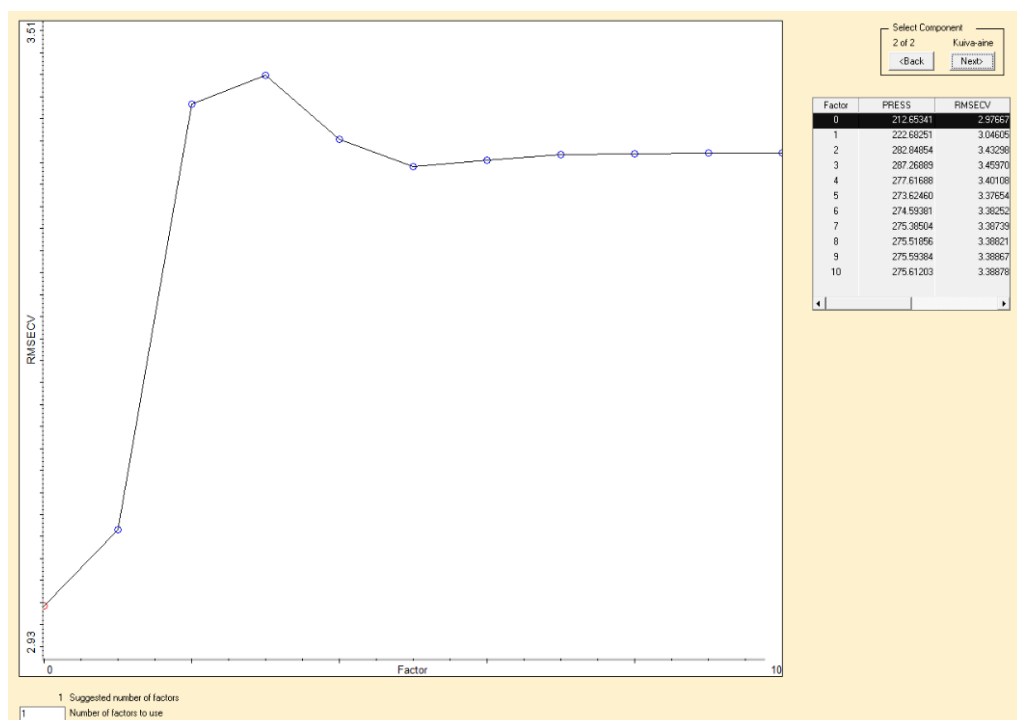
Jogurttien kuiva-ainepitoisuuksien regressiomalli on esitetty kuvassa 16 (s. 29). Regressioanalysissa RMSEC-arvoksi saatiin 1,89,

korrelaatiokertoimeksi 0,6471 ja enimmäispoikkeamaksi 3,3. PRESS-kaaviosta (Kuva 17, s. 29) saatiin yhdellä muuttujalla mittauksen virhe-estimaatiksi (RMSECV) 2,98.

Jogurttien kuiva-ainepitoisuuden kalibrointisarjan korrelaatiokerroin (0,6471) jäi liian alhaiseksi ja RMSEC-arvo (1,89) sekä enimmäispoikkeama (3,3) olivat liian suuria. PRESS-kaavion käyrä ei ole logaritmisesti laskeva. Referenssituloksia ja NIR-analysaattorin antamia tuloksia vertaamalla poikkeamien keskiarvoksi saatiin 1,72 (Liite 3 taulukko 9, s. 43), joka ylittää tavoitteen (0,2).



Kuva 16. Jogurttien kuiva-ainepitoisuuksien regressiomalli.



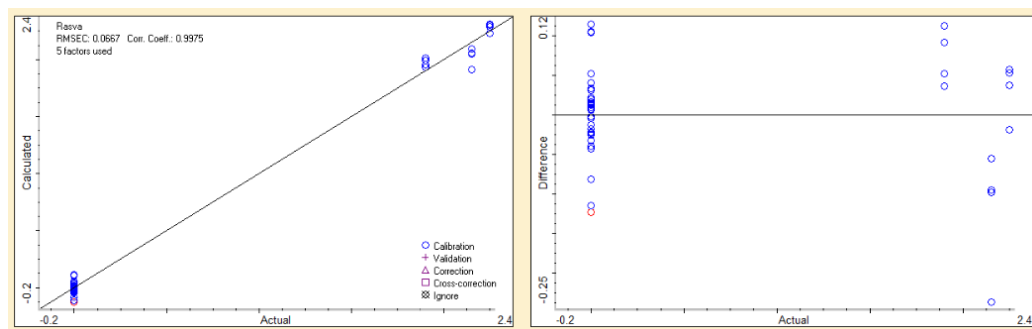
Kuva 17. Jogurttien kuiva-ainepitoisuuksien PRESS-kaavio.

6.4 Piimät

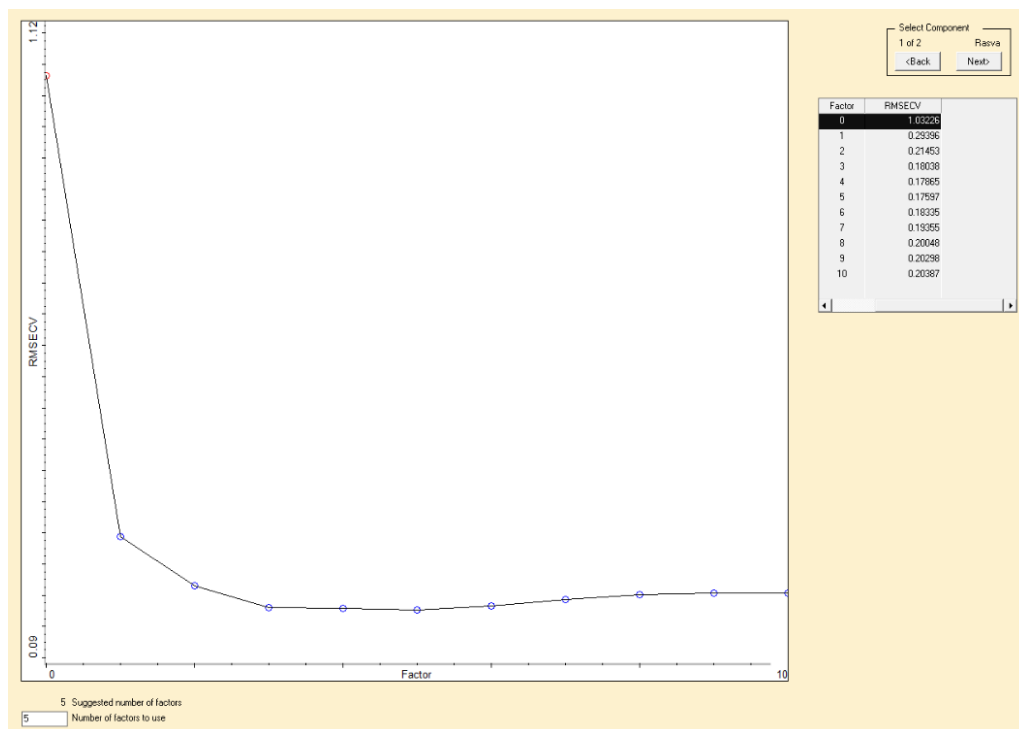
Analysoitavia piimiä oli 11. Piimistä analysoitiin rasvapitoisuus Gerber-menetelmällä (Luku 4.1, ss. 15–16). Rasvapitoisuus vaihteli välillä 0–2,4 %. Suurin osa analysoitavista piimistä oli rasvattomia, joten erilaisia tuloksia saatiin vähän. NIR-analysaattorilla analysointiin käytettiin pistoolia. Piimien rasvapitoisuuden referenssiarvot ja NIR-analysaattorin laskemat arvot on ilmoitettu liitteessä 4 taulukossa 10 (s. 44).

Piimien rasvapitoisuuksien regressiomalli on esitetty kuvassa 18. Regressioanalyysissä kalibroinnin virhe-estimaatiksi eli RMSEC-arvoksi saatiin 0,0667, korrelaatiokertoimeksi 0,9975 ja enimmäispoikkeamaksi 0,25. Ohjelma käyttää mallissa viittä muuttujaa, jolloin PRESS-kaaviosta (Kuva 19) saatiin mittauksen virhe-estimaatiksi (RMSECV) 0,18.

Piimien rasvapitoisuuden kalibrointisarjassa RMSEC-arvo (0,0667), korrelaatiokerroin (0,9975) ja enimmäispoikkeama (0,25) olivat hyviä. PRESS-kaavion käyrä oli hyvä, mutta ei täydellinen. Referenssituloksia ja NIR-analysaattorin antamia tuloksia vertaamalla saadaan poikkeamien keskiarvoksi 0,04 (Liite 4/1 taulukko 10, s. 44), joka oli tavoitteen mukainen.



Kuva 18. Piimien rasvapitoisuuksien regressiomalli.

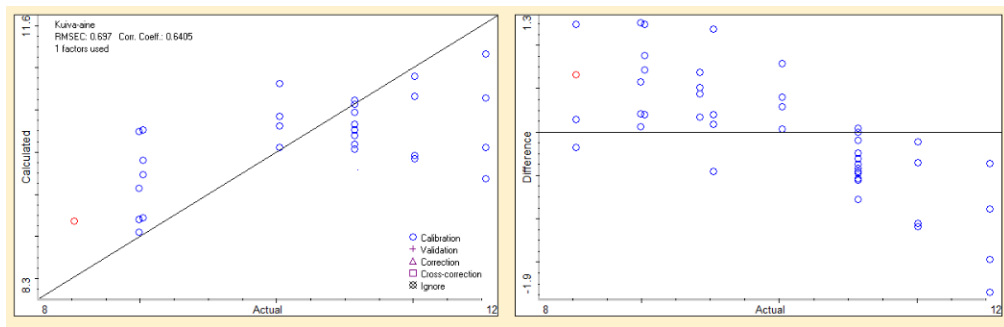


Kuva 19. Piimien rasvapitoisuuksien PRESS-kaavio.

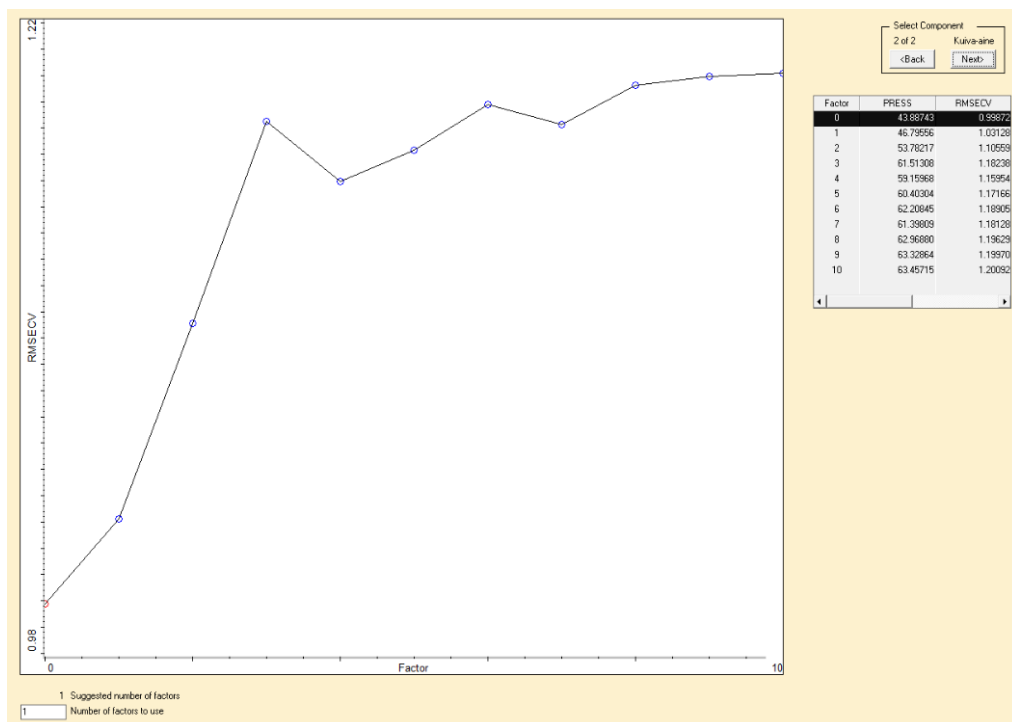
Piimistä analysoitiin kuiva-ainepitoisuus IR-kuivaimella (Luku 4.2, ss. 16–17). Kuiva-ainepitoisuus vaihteli välillä 8,5–11,5 %. NIR-analysaattorilla analysointiin käytettiin pistoolia. Piimien kuiva-ainepitoisuuden referenssiarvot ja NIR-analysaattorin laskemat arvot on ilmoitettu liitteessä 4 taulukossa 11 (s. 45).

Piimien kuiva-ainepitoisuuksien regressiomalli on esitetty kuvassa 20. Regressioanalyysissa kalibroinnin virhe-estimaatiksi eli RMSEC-arvoksi saatiin 0,697, korrelaatiokertoimeksi 0,6405 ja enimmäispoikkeamaksi 1,9. PRESS-kaaviosta (Kuva 21, s. 32) saatiin yhdellä muuttujalla mittauksen virhe-estimaatiksi (RMSECV) 1,03.

Piimien kuiva-ainepitoisuuden kalibrointisarjan korrelaatiokerroin (0,6405) jäi liian alhaiseksi ja RMSEC-arvo (0,697) sekä enimmäispoikkeama (1,9) olivat liian suuria. PRESS-kaavion käyrä ei ole logaritmisesti laskeva. Referenssituloksia ja NIR-analysaattorin antamia tuloksia vertaamalla poikkeamien keskiarvoksi saatiin 0,52 (Liite 4/2 taulukko 11, s. 45), joka ylittää tavoitteen (0,2).



Kuva 20. Piimien kuiva-ainepitoisuuksien regressiomalli.



Kuva 21. Piimien kuiva-ainepitoisuuksien PRESS-kaavio.

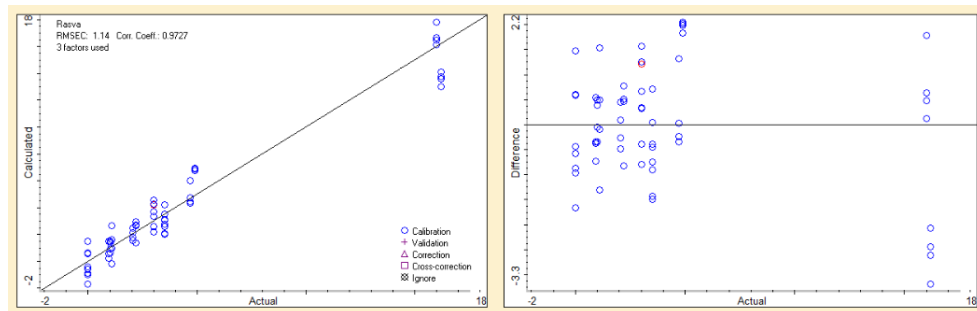
6.5 Viilit ja kermaviilit

Viilejä analysoitiin 11 näytettä ja kermaviilejä neljä. Viileistä ja kermaviileistä analysoitiin rasvapitoisuus Gerber-menetelmällä (Luku 4.1, ss. 15–16). Näytteiden rasvapitoisuus vaihteli välillä 0–16,25 %. NIR-analysaattorilla analysointiin käytettiin pistoolia. Ravintorasvojen rasvapitoisuuden referenssiarvot ja NIR-analysaattorin laskemat arvot on ilmoitettu liitteessä 5 taulukossa 12 (s. 46).

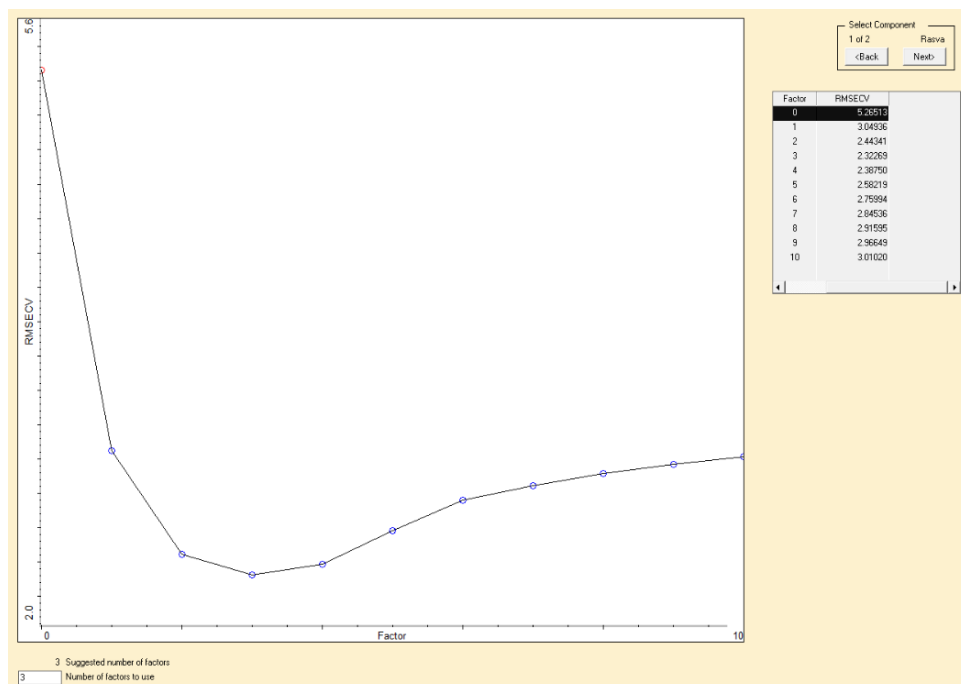
Viilien ja kermaviilien rasvapitoisuuksien regressiomalli on esitetty kuvassa 22 (s. 33). Regressioanalyysissä kalibroinnin virhe-estimaatiksi eli RMSEC-arvoksi saatiin 1,14, korrelaatiokertoimeksi 0,9727 ja

enimmäispoikkeamaksi 3,3. Kolmella muuttujalla PRESS-kaaviosta (Kuva 23, s. 33) saatiin mittauksen virhe-estimaatiksi (RMSECV) 2,32.

Viilien ja kermaviilien rasvapitoisuuden kalibrointisarjan korrelaatiokerroin (0,9727) on hyvä, mutta RMSEC-arvo (1,14) sekä enimmäispoikkeama (3,3) ovat liian suuria. PRESS-kaavion käyrä laskee aluksi logaritmisesti, mutta sitten nousee. Referenssituloksia ja NIR-analysaattorin antamia tuloksia vertaamalla saadaan poikkeamien keskiarvoksi 0,65 (Liite 5/1 taulukko 12, s. 46), joka on yli tavoitteen.



Kuva 22. Viilien ja kermaviilien rasvapitoisuuksien regressiomalli.

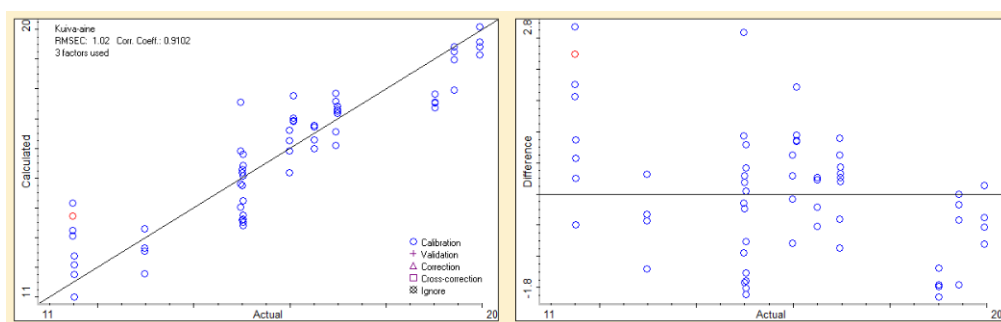


Kuva 23. Viilien ja kermaviilien rasvapitoisuuksien PRESS-kaavio.

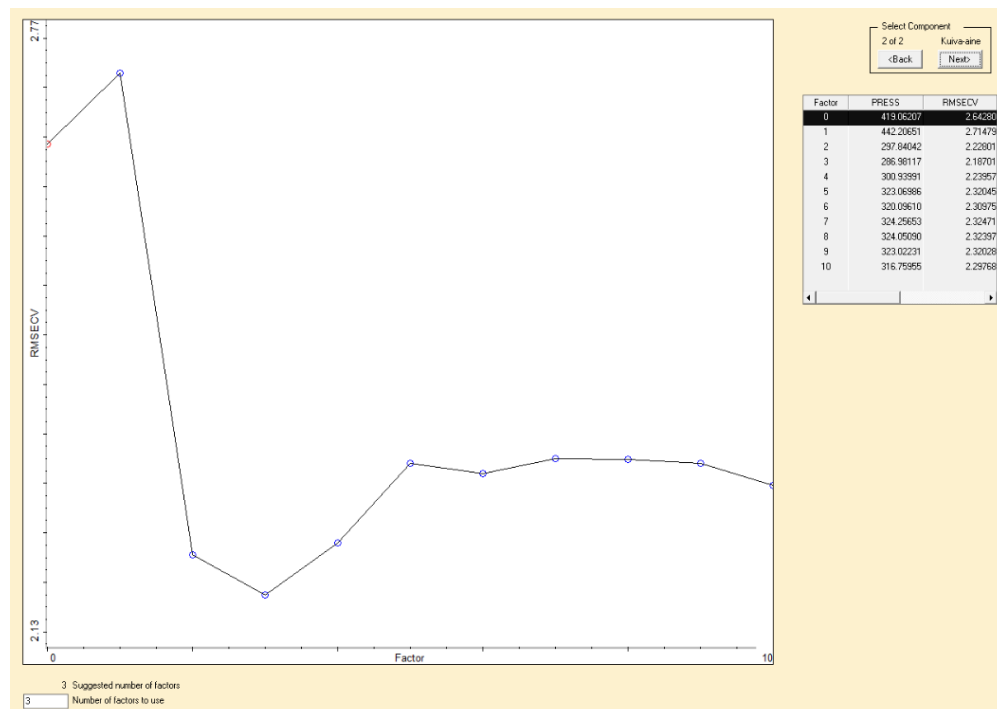
Viileistä ja kermaviileistä analysoitiin kuiva-ainepitoisuus IR-kuivaimella (Luku 4.2, ss. 16–17). Kuiva-ainepitoisuudet vaihtelivat välillä 11,49–19,94 %. NIR-analysaattorilla analysointiin käytettiin pistoolia. Ravintorasvojen rasvapitoisuuden referenssiarvot ja NIR-analysaattorin laskemat arvot on ilmoitettu liitteessä 5 taulukossa 13 (s. 47).

Kuiva-ainepitoisuuksien regressiomalli on esitetty kuvassa 24 (s. 34). Regressioanalyysissä kalibroinnin virhe-estimaatiksi eli RMSEC-arvoksi saatiin 1,02, korrelaatiokertoimeksi 0,9102 ja enimmäispoikkeamaksi 2,8. PRESS-kaaviosta (Kuva 25, s. 34) saatiin kolmella muuttujalla mittauksen virhe-estimaatiksi (RMSECV) 2,19.

Viilien ja kermaviilien kuiva-ainepitoisuuden kalibrointisarjan korrelaatiokerroin (0,9102) on kohtalainen, mutta RMSEC-arvo (1,02) sekä enimmäispoikkeama (1,8) ovat liian suuria. PRESS-kaavion käyrä ei ole halutunlainen. Referenssituloksia ja NIR-analysaattorin antamia tuloksia vertaamalla saadaan poikkeamien keskiarvoksi 0,52 (Liite 5/2 taulukko 13, s. 47), joka on haluttua isompi.



Kuva 24. Viilien ja kermaviilien kuiva-ainepitoisuuksien regressiomalli.



Kuva 25. Viilien ja kermaviilien kuiva-ainepitoisuuksien PRESS-kaavio.

7 JOHTOPÄÄTÖKSET

Työn toteuttamisen aikataulu oli verrattain tiukka, mutta siinä pysyttiin hyvin. Aikataulussa pysymistä helpotti se, että työ tehtiin parityönä. Parityöskentelystä oli hyötyä varsinkin kemiallisten analyysien tekemisessä, koska työssä käytetyt analyysimenetelmät olivat aikaa vieviä. Vaikka analyysien määrä jäi vähäiseksi johtuen poikkeustilasta, niitä olisi ollut huomattavasti vähemmän, jos olisi työskennelty yksin.

7.1 Kemialliset analyysit

Gerber- ja Van Gulik -menetelmillä saadut rinnakkaistulokset olivat hyvin linjassa keskenään, joten niitä voidaan pitää luotettavina. Tulokset eivät kuitenkaan ole kovin tarkkoja, koska aina ei ollut saatavilla pitoisuuksille sopivimpia butyrometrejä. Lisäksi butyrometrien asteikolla sai tuloksia vain yhden desimaalin tarkkuudella. Rasvattomista tuotteista ei tämän takia pystytty havaitsemaan mahdollista rasvapitoisuutta. Menetelmät olivat aikaa vieviä ja verrattain haastavia, koska ne vaativat paljon tarkkoja mittauksia ja pienikin virhe pilaa analysointituloksen. Erityisesti viilien pipetoiminen butyrometreihin oli haastavaa, johtuen viilin viskoosista rakenteesta. Van Gulik -menetelmässä juustojen liukeneminen rikkihappoon oli aikaa vievää. Osa analyyseistä epäonnistui, koska butyrometreihin ei muodostunut ollenkaan rasvafaasia. Menetelmät ovat hyviä rasvapitoisuuden määrittämiseen, mutta ne vaativat erityistarkkuutta ja aikaa.

IR-kuivain toimi referenssianalyysimenetelmänä vaihtelevasti. Toimiesseen sillä saatiin hyviä rinnakkaistuloksia, se on helppokäyttöinen ja verrattain nopea. IR-kuivaimen vaaka täytyi olla tietyssä asennossa, jotta se toimi stabiilisti. Vaa'an asettelemiseen meni paljon aikaa ja sen vuoksi samoja näytteitä piti analysoida uudestaan. IR-kuivaimessa ei ollut valmiita asetuksia kaikille analysoitaville tuotteille, joten sopivat asetukset piti määrittää itse. Sopivien asetuksien löytämisessä oli haasteita ja tämän takia kaikki referenssitulokset eivät ole luotettavia. Työssä käytetyn IR-kuivaimen vaaka vaatii huoltoa ja sen käyttöohjeet pitäisi päivittää kaikille tuotteille sopiviksi. IR-kuivain ei ole luotettava analysointimenetelmä referenssituloksille. Kuiva-ainepitoisuudet voisi analysoida esimerkiksi lämpökaapissa.

Voin vesipitoisuuden analysointimenetelmä sekä Mohrin titraus onnistuivat hyvin ja niillä saatiin luotettavia referenssituloksia. Ravintorasvojen rasvapitoisuudet olivat myös luotettavia referenssituloksia, koska ne laskettiin vesi- ja suolapitoisuuksien avulla. Vesipitoisuuden analysointimenetelmä oli työläs ja analysointiin kului paljon aikaa. Menetelmät ovat hyviä ravintorasvojen analysointiin.

7.2 Näytteiden mittaus ja regressioanalyysin luominen

NIR-analysaattorin käyttöön tarvittavan OMNIC™ Specta -ohjelman käytön oppi nopeasti. NIR-analysaattorilla tehdyt mittaukset sujuivat ongelmitta. NIR-pyörällä mitattujen spektrien luotettavuuteen saattoi vaikuttaa se, että kyvetinä käytettiin petrimaljaa, jota pyöritettiin käsin.

TQ Analyst -ohjelmalla PLS-regressioanalyysin luominen oli helppoa ja ohjelma opastaa käyttäjää tarvittaessa. Ohjeistus on kuitenkin vain suuntaa antavaa. Ohjelman kaikkien ominaisuuksien hallitseminen vaatii aikaa ja ymmärrystä tilastomatematiikasta. Kansallisen poikkeustilan takia TQ Analyst -ohjelman käyttöön perehtyminen jäi rajalliseksi ja näytteiden määrä ei riittänyt kattavien regressioanalyysien tekoon. Näytteitä ei ollut tarpeeksi testisarjavalidoinnin luomiseksi eikä ennustuksen neliövirhettä (RMSEP) saatu laskettua.

7.3 Tulosten pohdinta

Ravintorasvojen analyysimenetelmät olivat hyviä ja niiden avulla saatiin luotettavia tuloksia. Näytteiden määrä regressioanalyysin luontiin oli aivan liian pieni, joten siitä saadut tulokset ovat vain suuntaa antavia. Kalibroinnin loppuun saattamiseksi täytyisi vielä analysoida ravintorasvoja eri pitoisuuksilla.

Juustojen osalta kalibrointi ei onnistunut toivotulla tavalla. Regressioanalyysien virhe-estimaatit sekä referenssitulosten ja NIR-analysaattorin laskennallisten tulosten poikkeamat olivat aivan liian korkeat. Tämä voi johtua virheistä analyysimenetelmissä tai NIR-pyörästä, jota käytettiin vain juustojen analysointiin. Referenssituloksia analysoitaessa virheet ovat voineet syntyä mittausvirheistä tai siitä, että juusto ei ole liennut kunnolla rikkihappoon. NIR-pyörää käytettäessä virheet ovat voineet johtua siitä, että mahdollisesti näytteiden lämpötila ei ole ollut stabiili, näytteet eivät ole olleet homogeenisiä tai näytettä ei ole ollut tarpeeksi näytekupissa. Kuitenkaan rinnakkaiset referenssitulokset eivät poikkea paljoa toisistaan. NIR-analysaattorin ja referenssianalyysien antamien tulosten ero korostui etenkin juustojen rasvapitoisuuden määrittämisessä. Kun kalibrointia jatketaan, huonot tulokset täytyy karsia kalibrointisarjasta. Kalibrointisarjaan on vielä lisättävä juustonäytteitä, etenkin niitä, joiden rasvapitoisuus on alle 20 %.

Jogurttien rasvapitoisuuden määrittämisessä saatujen referenssitulosten ja NIR-analysaattorin tulosten poikkeama oli pieni eli tuloksia voidaan pitää luotettavina. Näytteiden määrä regressioanalyysin luomiseen oli vähäinen ja pitoisuuksien välille jäi aukkoja täytettäväksi. Regressioanalyysistä saadut arvot olivat tavoitteiden mukaisia, mutta vain suuntaa antavia. Jogurtin kuiva-ainepitoisuuden referenssimäärittämisessä oli ongelmia ja IR-kuivaimen asetuksia jouduttiin säätämään analysoinnin välissä. Tästä

syystä rinnakkaisten referenssituloksien välillä oli eroja, joten niitä ei voida pitää luotettavina. Kalibrointia jatkettaessa, kalibrointisarja pitää validoida, jotta huonot tulokset karsiutuvat. Kalibrointisarjaan on lisättävä etenkin korkeamman rasvaprosentin (>3 %) jogurtteja.

Piimien rasvapitoisuuden referenssitulosten ja NIR-analysaattorin tulosten poikkeama oli pieni ja regressioanalyysissä saadut arvot olivat tavoitteiden mukaisia. Suurin osa piimistä oli kuitenkin rasvattomia, joten näytteiden välillä oli vähän varianssia. Jatkossa kalibrointisarjaan pitää lisätä näytteitä eri rasvapitoisuuksilla. Piimien kuiva-ainepitoisuuden referenssimäärittelyssä IR-kuivaimella oli samoja ongelmia, kuin jogurtin kuiva-ainepitoisuuden määrittelyssä. Kun kalibrointia jatketaan, kalibrointisarja pitää validoida, jotta huonot tulokset karsiutuvat.

Viilien ja kermaviilien rasvapitoisuuden määrittäminen Gerber-menetelmällä oli haastavaa. Viilien annostelut butyrometriin tehtiin mittapipetillä. Annostelu oli epätarkkaa, johtuen viilien viskoosista rakenteesta. Viilien rakenne ei ole luonnostaan homogeeninen. Vaikka referenssinäytteet sekoitettiin, viilin pinnalla olevan kermakerroksen rasva saattoi jakautua näytteeseen epätasaisesti. Referenssituloksia ei siis voida pitää täysin luotettavina. Annostelun helpottamiseksi voisi kokeilla näytteiden laimentamista ja rasvapitoisuuden määrittämistä laskukaavan avulla. Analysoitujen näytteiden rasvapitoisuuksien välissä on aukkoja, joten kalibrointisarjaan on lisättävä varsinkin sellaisia näytteitä, joiden rasvapitoisuus on välillä 5–16 %. Viilien ja kermaviilien kuiva-ainepitoisuuden referenssimäärittelysten rinnakkaistulokset olivat lähellä toisiaan. Regressioanalyysin arvoista voidaan kuitenkin päätellä, että tulokset eivät ole luotettavia. Kalibrointia jatkettaessa, kalibrointisarja pitää validoida, jotta huonot tulokset karsiutuvat.

Työn toiminnalliselle osuudelle eli näytteiden analysointiin varattu aika jäi hyvin vähäiseksi, koska oppilaitokset suljettiin kansallisen poikkeustilan vuoksi. Lisäksi analysoitavien tuotteiden määrä oli rajallinen, koska meijeriopiskelijoiden käytännöntöitä oli vähän aikana, jolle työn toiminnallinen osuus sijoittui. Opetusmeijerissä valmistettujen tuotteiden lisäksi, analysoitiin myös kaupallisia tuotteita. Analysointiin varattu aika olisi voitu käyttää tehokkaammin, jos analysoitavia tuotteita olisi ollut enemmän saatavilla. Edellä mainituista syistä kattavaa tietokantaa ei pystytty luomaan, jonka takia NIR-analysaattorilla ei vielä saada luotettavia tuloksia. Kattavaa tietokantaa varten kalibrointisarjoihin tulee lisätä paljon näytteitä eri pitoisuuksilla. Kattava tietokanta on mahdollista saavuttaa analysoijaa jatkamalla esimerkiksi meijeriopiskelijoiden toimesta. Opiskelijat voisivat aina kemiallisia analyysejä tehdessään mitata näytteet myös NIR-analysaattorilla ja syöttää referenssitulokset kalibrointisarjaan. Tässä työssä tehtiin NIR-analysaattorille käyttöohjeet (Liite 6 & 7, ss. 48–52), jotka opastavat kalibroinnin jatkamisessa. Kun kalibrointi on valmis, NIR-analysaattorista saadaan osa Hämeen ammatti-instituutin opetusmeijerin lopputuotteiden laadunvalvontaa.

LÄHTEET

Bylund, G. (2003). Dairy Processing Handbook. Tetra Pak Processing Systems AB. Haettu 30.1.2020 osoitteesta <https://dairyprocessinghandbook.tetrapak.com/>

Demirci, A., Irudayaraj, J., Khwarana, H.K., Krishnamurthy, K. & Soojin, J. (2008). *Infrared Heating in Food Processing: An Overview*. Haettu 30.1.2020 osoitteesta <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1541-4337.2007.00024.x>

Esbensen, K.H., Guyot, D., Westad, F. & Houmoller, L.P. (2002). *Multivariate Data Analysis – In Practice*. 5. painos. Norja: CAMO Process AS.

Harris, P. & Altaner, C. (2013). Workshop on Commercial Application of IR Spectroscopies to Solid Wood. Haettu 10.02.2020 osoitteesta https://www.researchgate.net/profile/Clemens_Altaner/publication/261100154_Workshop_on_commercial_application_of_IR_spectroscopies_to_solid_wood/links/53e7cb170cf2fb74872325cd.pdf#page=7

Holopainen, M., Nummenmaa, L. & Pulkkinen, P. (2017). *Tilastollisten menetelmien perusteet*. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Honkavirta, P. (2020). Tutustuminen NIR-analysaattoriin. Yritysvierailu 21.2.2020, Hosmed Oy.

Hosmed. (n.d.). Nicolet iS50. Haettu 12.2.2020 osoitteesta <https://hosmed.fi/tuotteet/ftir/nicolet-is50/>

Koivikko, A. (2018). *NIR-analysaattorin kalibrointi maitotuotteille*. Opin- näytetyö. Bio- ja elintarviketekniikka. Hämeen ammattikorkeakoulu. Haettu 20.1.2020 osoitteesta <https://hamk.finna.fi/Record/vanaicat.133736>

Korkee, P. (2010). *Probiootteja sisältävän piimän valmistaminen ja säilyvyyden seuranta*. Opin- näytetyö. Bio- ja elintarviketekniikka. Hämeen ammattikorkeakoulu. Haettu 3.4.2020 osoitteesta <https://www.theseus.fi/handle/10024/21266>

MathWorks. (n.d.). Savitzky-Golay filtering. Haettu 9.4.2020 osoitteesta <https://se.mathworks.com/help/signal/ref/sgolayfilt.html>

Metrohm. (2013). Special NIRS edition. Haettu 27.2.2020 osoitteesta <https://www.metrohm.com/fi-fi/products-overview/process-analyzers/applikon-nirs-pro/%C2%A0>

Opetushallitus. (n.d.). Infrapunaspektrometria. Haettu 03.02.2020 osoitteesta http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/analyysimenetelmat_5-4_infrapunaspektrometria.html

Ruokatieto. (n.d.). Maitotuotteet. Haettu 3.4.2020 osoitteesta <https://www.ruokatieto.fi/ruokakasvatus/ruokaketju-ruuan-matka-pelolta-poytaan/elintarviketeollisuus/elintarvikkeiden-valmistus/maitotuotteet>

Tamminen, R. (2020). Kemiallinen laadunvalvonta. Oppitunnit 28.1.2020, Hämeen ammatti-instituutti.

Tapaila, M. (2015). Maidon kemian perusteita. Maidon jalostus tuotteeksi 1 -moduulin verkkoaineisto, Moodle. Hämeen ammattikorkeakoulu. Haettu 13.2.2020 osoitteesta <https://moodle.hamk.fi/>

Thermo Scientific. (n.d.a.). Introduction to Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Haettu 2.4.2020 osoitteesta https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/BR50555_E_0513M_H_1.pdf

Thermo Scientific. (n.d.b.). Thermo Scientific™. OMNIC™ Specta Software. Haettu 12.2.2020 osoitteesta <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/833-036200#/833-036200>

Tsenkova, R., Atanassova, S., Toyoda, K., Ozaki, Y., Itoh, K. & Fearn, T. (1999) Near-Infrared Spectroscopy for Dairy Management: Measurement of Unhomogenized Milk Composition. Haettu 4.5.2020 osoitteesta <https://www.journalofdairyscience.org/action/showPdf?pii=S0022-0302%2899%2975484-6>

Valio. (n.d.). Viilit. Haettu 3.4.2020 osoitteesta <https://www.valio.fi/tuotteet/viilit/>

Väistö, A. (2010). *Viilin varahapatteen kehittäminen*. Maisterin tutkielma. Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos. Helsingin yliopisto. Haettu 3.4.2020 osoitteesta <https://helda.helsinki.fi/handle/10138/24653>

Rasvoja rasva- ja kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Taulukko 4. Rasvojen rasvapitoisuuksien referenssitulokset laskukaavalla ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Tuote	Rasva	Keskiarvo (rasva)	NIR keskiarvo (Rasva)	Poikkeama
Kirvuvoi a Kirnuvoi b	83,3	83,3	83,03	-0,27
Meijeriini a Meijeriini b	84,88	84,88	84,9	0,02
Valkosipulivoi a Valkosipulivoi b	81,71	81,71	81,97	0,26

Taulukko 5. Rasvojen vesipitoisuuksien referenssitulokset painoanalyysillä ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Tuote	Vesipitoisuus	Keskiarvo (Vesi)	NIR keskiarvo (Vesi)	Poikkeama
Kirvuvoi a Kirnuvoi b	13,22 13,18	13,2	13,48	0,28
Meijeriini a Meijeriini b	11,59 11,64	11,615	11,6	-0,015
Valkosipulivoi a Valkosipulivoi b	14,9 14,68	14,79	14,54	-0,25

Juustojen rasva- ja kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset ja NIR-analyssaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Taulukko 6. Juustojen rasvapitoisuuksien referenssitulokset Van Gulik-menetelmällä ja NIR-analyssaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Tuote	Rasva	Keskiarvo (rasva)	NIR keskiarvo (Rasva)	Poikkeama
Olut cheddar a	32	32,25	29,78	-2,47
Olut cheddar b	32,5			
Punaviini cheddar a	33	33,5	29,51	-3,99
Punaviini cheddar b	34			
Premium cheddar a	33	33	29,55	-3,45
Premium cheddar b	x			
Muru kermajuusto a	34	33,75	29,63	-4,12
Muru kermajuusto b	33,5			
Original cheddar a	28	28	29,6	1,6
Original cheddar b	28			
Pirkka emmental a	30	30	29,27	-0,73
Pirkka emmental b	x			
Valio edam a	24	24	27,92	3,92
Valio edam b	24			
Arki gouda a	16,5	16,5	17,29	0,79
Arki gouda b	x			
Jukola cheddar a	20	20	27,45	7,45
Jukola cheddar b	20			

Taulukko 7. Juustojen kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset IR-kuivaimella ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Tuote	Kuiva-aine	Keskiarvo (KA)	NIR keskiarvo (KA)	Poikkeama
Olut cheddar a	61,54	61,78	62,34	0,56
Olut cheddar b	62,02			
Punaviini cheddar a	62,19	61,905	62,25	0,345
Punaviini cheddar b	61,62			
Premium cheddar a	59,6	60,23	62,21	1,98
Premium cheddar b	60,86			
Muru kermajuusto a	63,63	64	62,22	-1,78
Muru kermajuusto b	64,37			
Original cheddar a	61,47	61,575	62,22	0,645
Original cheddar b	61,68			
Pirkka emmental a	63,98	64,105	62,96	-1,145
Pirkka emmental b	64,23			
Valio edam a	58,94	58,965	60,51	1,545
Valio edam b	58,99			
Arki gouda a	58,96	58,505	58,505	0
Arki gouda b	58,05			
Jukola cheddar a	65,29	65,66	63,53	-2,13
Jukola cheddar b	66,03			

Jogurttien rasva- ja kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Taulukko 8. Jogurttien rasvapitoisuuksien referenssitulokset Gerber-menetelmällä ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Tuote	Rasva	Keskiarvo (rasva)	NIR keskiarvo (Rasva)	Poikkeama
Jogurtti 1 a	2,6	2,6	2,56	-0,04
Jogurtti 1 b	2,6			
Jogurtti 2 a	1,2	1,175	1,12	-0,055
Jogurtti 2 b	1,15			
Jogurtti 3 a	0	0	-0,05	-0,05
Jogurtti 3 b	0			
Jogurtti 4 a	1	1	1,07	0,07
Jogurtti 4 b	1			
Jogurtti 5 a	2,6	2,6	2,63	0,03
Jogurtti 5 b	2,6			
Jogurtti 6 a	0	0	0,06	0,06
Jogurtti 6 b	0			

Taulukko 9. Jogurttien kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset IR-kuivaimella ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Tuote	Kuiva-aine	Keskiarvo (KA)	NIR keskiarvo (KA)	Poikkeama
Jogurtti 1 a	17,92	18,43	16,08	-2,35
Jogurtti 1 b	18,94			
Jogurtti 2 a	13,94	13,94	13,73	-0,21
Jogurtti 2 b	13,94			
Jogurtti 3 a	13,97	14,94	12,35	-2,59
Jogurtti 3 b	15,91			
Jogurtti 4 a	11,99	12,03	13,96	1,93
Jogurtti 4 b	12,07			
Jogurtti 5 a	13,93	14,47	16,11	1,64
Jogurtti 5 b	15,01			
Jogurtti 6 a	9,94	10,49	12,08	1,59
Jogurtti 6 b	11,04			

**Piimien rasva- ja kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset ja
NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot**

Taulukko 10. Piimien rasvapitoisuuksien referenssitulokset Gerber-menetelmällä ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Tuote	Rasva	Keskiarvo (rasva)	NIR keskiarvo (Rasva)	Poikkeama
Piimä 1 a	0	0	-0,03	-0,03
Piimä 1 b	0			
Piimä 2 a	0	0	0,02	0,02
Piimä 2 b	0			
Piimä 3 a	0	0	-0,02	-0,02
Piimä 3 b	0			
Piimä 4 a	0	0	0,07	0,07
Piimä 4 b	0			
Piimä 5 a	0	0	-0,03	-0,03
Piimä 5 b	0			
Piimä 6 a	0	0	0,01	0,01
Piimä 6 b	0			
Piimä 7 a	0	0	0	0
Piimä 7 b	0			
Piimä 8 a	0	0	0,01	0,01
Piimä 8 b	0			
Pirkka piimä a	1,8	1,9	1,97	0,07
Pirkka piimä b	2			
Valio piimä 1 a	2,2	2,15	2,03	-0,12
Valio piimä 1 b	2,1			
Valio piimä 2 a	2,5	2,375	2,28	-0,095
Valio piimä 2 b	2,25			

Taulukko 11. Piimien kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset IR-kuivaimella ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Tuote	Kuiva-aine	Keskiarvo (KA)	NIR keskiarvo (KA)	Poikkeama
Piimä 1 a	7,98	8,52	8,99	0,47
Piimä 1 b	9,06			
Piimä 2 a	10,06	9,52	9,78	0,26
Piimä 2 b	8,97			
Piimä 3 a	8,92	9,42	9,87	0,45
Piimä 3 b	9,92			
Piimä 4 a	12,08	10,57	10,02	-0,55
Piimä 4 b	9,06			
Piimä 5 a	11,05	11,01	10,36	-0,65
Piimä 5 b	10,96			
Piimä 6 a	9,05	8,99	9,51	0,52
Piimä 6 b	8,93			
Piimä 7 a	11,07	11,53	10,39	-1,14
Piimä 7 b	11,99			
Piimä 8 a	10,08	9,02	9,78	0,76
Piimä 8 b	7,95			
Pirkka piimä a	11,09	10,57	10,34	-0,23
Pirkka piimä b	10,05			
Valio piimä 1 a	10,1	10,57	10,31	-0,26
Valio piimä 1 b	11,03			
Valio piimä 2 a	10,02	10,02	10,4	0,38
Valio piimä 2 b	10,02			

Viilien ja kermaviilien rasva- ja kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Taulukko 12. Viilien ja kermaviilien rasvapitoisuuksien referenssitulokset Gerber-menetelmällä ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Tuote	Rasva	Keskiarvo (rasva)	NIR keskiarvo (Rasva)	Poikkeama
Valio viili 1 a	3	3	4,18	1,18
Valio viili 1 b	3			
Valio viili 2 a	3,4	3,5	3,22	-0,28
Valio viili 2 b	3,6			
Mehuviili 3 a	0	0	0,27	0,27
Mehuviili 3 b	0			
Mehuviili 4 a	1,1	1,1	1,26	0,16
Mehuviili 4 b	x			
Mehuviili 5 a	0,95	0,925	0,7	-0,225
Mehuviili 5 b	0,9			
Mehuviili 6 a	2,2	2,2	2,43	0,23
Mehuviili 6 b	2,2			
Mehuviili 7 a	0	0	-0,73	-0,73
Mehuviili 7 b	0			
Mehuviili 8 a	1	1	1,12	0,12
Mehuviili 8 b	1			
Mehuviili 9 a	2,1	2,05	2	-0,05
Mehuviili 9 b	2			
Valio viili 10 a	3	3	2,87	-0,13
Valio viili 10 b	3			
Valio viili 11 a	3,5	3,5	2,62	-0,88
Valio viili 11 b	3,5			
Pirkka kevyt kermaviili 1 a	4,8	4,9	6,87	1,97
Pirkka kevyt kermaviili 1 b	5			
Pirkka kermaviili 1 a	16,5	16,25	13,63	-2,62
Pirkka kermaviili 1 b	16			
Pirkka kevyt kermaviili 2 a	4,8	4,7	4,89	0,19
Pirkka kevyt kermaviili 2 b	4,6			
Pirkka kermaviili 2 a	16	16	16,76	0,76
Pirkka kermaviili 2 b	16			

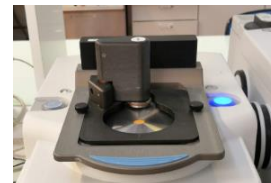
Taulukko 13. Viilien ja kermaviilien kuiva-ainepitoisuuksien referenssitulokset IR-kuivaimella ja NIR-analysaattorilla saadut laskennalliset ja ennustetut arvot

Tuote	Kuiva-aine	Keskiarvo (KA)	NIR keskiarvo (KA)	Poikkeama
Valio viili 1 a	10,98	11,485	13,55	2,065
Valio viili 1 b	11,99			
Valio viili 2 a	15,05	15,02	13,7	1,32
Valio viili 2 b	14,99			
Mehuviili 3 a	14,94	14,975	15,58	0,605
Mehuviili 3 b	15,01			
Mehuviili 4 a	15,96	15,975	15,99	0,015
Mehuviili 4 b	15,99			
Mehuviili 5 a	16,08	16,5	16,45	-0,05
Mehuviili 5 b	16,92			
Mehuviili 6 a	16,98	16,95	17,02	0,07
Mehuviili 6 b	16,92			
Mehuviili 7 a	15,02	15	14,7	-0,3
Mehuviili 7 b	14,98			
Mehuviili 8 a	16,97	16,975	17,29	0,315
Mehuviili 8 b	16,98			
Mehuviili 9 a	17,93	18,47	17,57	-0,9
Mehuviili 9 b	19,01			
Valio viili 10 a	11,07	11,51	11,81	0,3
Valio viili 10 b	11,94			
Valio viili 11 a	13	12,98	12,57	-0,41
Valio viili 11 b	12,96			
Pirkka kevyt kermaviili 1 a	16,07	16,575	17,16	0,585
Pirkka kevyt kermaviili 1 b	17,08			
Pirkka kermaviili 1 a	19,06	19,41	18,9	-0,51
Pirkka kermaviili 1 b	19,76			
Pirkka kevyt kermaviili 2 a	14,95	15,02	15,02	0
Pirkka kevyt kermaviili 2 b	15,09			
Pirkka kermaviili 2 a	19,96	19,94	19,56	-0,38
Pirkka kermaviili 2 b	19,92			

Nicolet iS50 FT-IR -spektrometriin liitetyn NIR-analysaattorin käyttöohjeet

NIR-analysaattorilla mittaaminen **OMNIC™ Specta** -ohjelmalla

1. Käynnistä Nicolet iS50 FT-IR -spektrometri laitteen takana olevasta katkaisimesta ja käynnistä tietokone
2. Avaa tietokoneesta OMNIC™ Specta -ohjelma.
3. Valitse mittaustyökalu painamalla sen kohdalla olevaa sinistä nappia laitteessa
 - Oikealla NIR-pyörä kiinteille kuten juustolle (integrating sphere)
 - Vasemmalla pistooli nesteille (Fiber Optic Sabir Probe)
4. Experiment Setup -> voi vaihtaa asetuksia
Yleensä: resoluutio 8,
scannien lukumäärä 32,
NIR-alue 4000-10 000 cm^{-1}
5. Mittaa tausta eli Collect Background. Taustaa ei tarvitse mitata joka mittauksen välissä, mutta aina alussa ja esim. 2h välein. Taustan mittaus on vertailuksi/nollakohdaksi.
6. NIR-pyörää käytettäessä laita näytettä kertakäyttöiseen petrimaljaan (löytyvät vetolaatikosta NIR-analysaattorin alta) niin, että pohja peittyy. Juusto on raastettava ennen analysointia. Näytettä mitattaessa petrimaljaa pyöritetään varovasti.
7. Pistoolia käytettäessä pistooli laitetaan suoraan näytepurkissa olevaan näytteesen.
8. Näytteiden on oltava homogeenisiä (sekoita!) ja lämpötila stabiili.
9. Mitataan näyte eli Collect Sample
10. Näytteiden välissä petrimalja/pistooli puhdistetaan pesemällä/pyyhkimällä ja desinfioidaan (ETA700).



11. **Jos kalibrointi on valmis** kyseiselle tuoteryhmälle, voidaan mitata pitoisuudet.

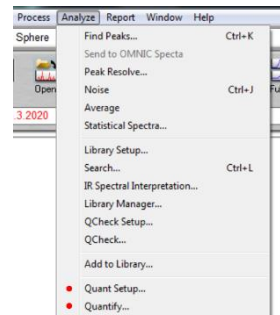
Analyze ->

Quantify Setup ->

Valitaan metodi esim. Jogurtit_2020 ->

Open ->

Quantify -> antaa pitoisuudet



12. **Jos kalibrointia ei ole suoritettu loppuun**, mitattu spektri tallennetaan nimellä kansioon OSDRIIVE -> My Documents -> Omnic -> Spectra

13. Nimeä spektri niin, että tunnistat sen esim. tuotteen nimi, mahdollisia lisätietoja ja päivämäärä. Näytteestä otetaan myös mahdollisia rinnakkaismittauksia, jotka nimetään
esim. jogurtti_3%_1 3.4.2020, jogurtti_3%_2 3.4.2020, jogurtti_3%_3 3.4.2020 jne.

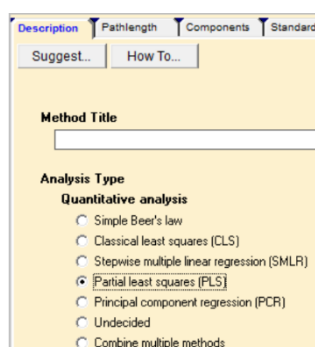
14. Kalibrointi tehdään TQ Analyst-ohjelmalla, kts. ohje

Nicolet iS50 FT-IR -spektrometriin liitetyn NIR-analysaattorin käyttöohjeet

NIR-analysaattorin kalibroiminen TQ Analyst-ohjelmalla

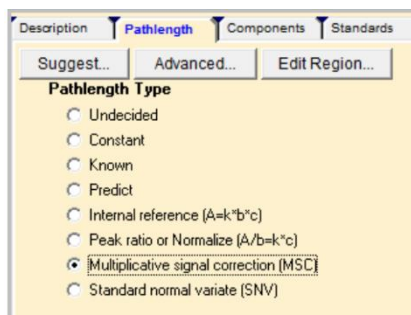
TQ Analyst ohjelmalla kalibroidaan NIR-analysaattori, kun on ensin mitattu OMNIC™ Specta -ohjelmalla spektrit ja kemian analyysimenetelmillä referenssitulokset halutuista pitoisuuksista.

1. Avaa tietokoneella TQ Analyst-ohjelma. Kun Explain-painike on pohjassa, se neuvoo mitä eri vaiheet tarkoittavat.
2. **Jos tehdään uutta kalibrointisarjaa**, aloitetaan valitsemalla Description-sivulta analyysityypiksi Partial least squares (pienimmän neliösumman menetelmä) PLS



Jos lisätään arvoja vanhaan kalibrointisarjaan, katso kohta 11.

3. Valitaan Pathlength-sivulta tyyppi Multiplicative signal correction MSC



4. Components-sivulla täytetään taulukkoon mitä pitoisuuksia mitataan ja millä yksiköillä esim. rasva, lyhenne rasv ja yksikkö %

Index	Component	Abbrev.	Unit	Digits	Analysis Low	Analysis High	Uncertainty Limit	Result
1	Rasva	Rasv	%	2	0.00	0.00	10.00	Compute and report
2	Kuiva-aine	KA	%	2	0.00	0.00	10.00	Compute and report
3								Compute and report

5. Standards-sivulla taulukkoon syötetään OMNIC™ Specta -ohjelmalla mitatut spektrit. Open standard -> OSDRIVE -> My documents -> Omnic -> Specta ja sieltä valitaan halutut spektrit. Taulukkoon syötetään myös kemian analyysimenetelmillä mitatut referenssiarvot. **Desimaali merkitään pisteellä!** Valitaan Usage -> Calibration

Standards

☒ Show spectrum titles
☐ Show spectrum file names
☐ Automatically convert spectrum to Wavenumbers
☐ Automatically convert spectrum to Absorbance
☐ Restrict Y-axis range in standard spectra
☐ Restrict Y-axis range in sample spectra

0.000 Start 1.500 End

Missing Data
 Indicator value

Standards Spectra

X axis unit	Wavenumbers (cm-1)
Y axis unit	Absorbance
Spectral range	3999.640 - 10001.029
Data spacing	3.8569

Standards Table: 36 Calibration

Index	Select	Spectrum Title	Usage	Rasva	KA
1		olut cheddar_1 3.3.2020	Calibration	32.25	61.78
2		olut cheddar_2 3.3.2020	Calibration	32.25	61.78
3		punaviini cheddar_1 3.3.2020	Calibration	33.50	61.90
4		punaviini cheddar_2 3.3.2020	Calibration	33.50	61.90
5		premium cheddar_1 3.3.2020	Calibration	32.00	60.23
6		premium cheddar_2 3.3.2020	Calibration	32.00	60.23
7		kermajuusto_1 3.3.2020	Calibration	33.75	64.00
8		kermajuusto_2 3.3.2020	Calibration	33.75	64.00
9		kermajuusto_3 3.3.2020	Calibration	33.75	64.00
10		kermajuusto_4 3.3.2020	Calibration	33.75	64.00

6. Tässä vaiheessa **tallennetaan metodi** tuoteryhmän nimellä esim. Juustot_2020
OSDRIVE -> My Documents -> Omnic -> Quant
(Yhdestä metodista tallentuu kolme tiedostoa, jotka kaikki täytyy olla samassa kansiossa)
7. Spectra-sivulta valitaan Data format jompikumpi derivaatta ja tasoittamiseen jompikumpi filtti. Derivaattaa ja filttiä voi vaihdella sarjaan sopivaksi.

Using the Spectra Tab Processing

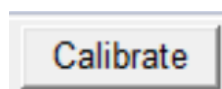
☒ Process standards
☐ But do not use 'Spectral Reference Adjustment'
☐ Process pathlength region
☐ Correct for SNV pathlength after smoothing or derivative

Data Format
Second derivative

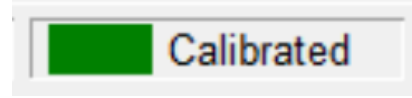
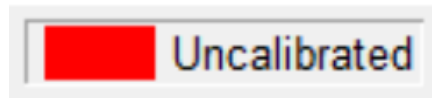
Smoothing

☐ No smoothing
☒ Savitzky-Golay filter
Data points: 7 Polynomial order: 3
☐ Norris derivative filter
Segment length: 5 Gap between segments: 5

8. Regions-sivulla valitaan region type 4000-10000
9. Kalibroidaan (ilman validointia)



Punainen palkki muuttuu vihreäksi ja saadaan regressiomallit sekä laskennalliset ja ennustetut pitoisuudet. **Tallenna metodi!**



10. Quantify -> haetaan spektri valmiiseen kalibrointiin -> saadaan pitoisuus
11. Jos lisätään arvoja vanhaan kalibrointisarjaan, aloitetaan avaamalla metodi.
File -> Open method
12. Kun metodi on avattu, uudet spektrit ja referenssitulokset lisätään taulukkoon kohdan 5 mukaisesti. Kalibrointi jatketaan loppuun ohjeiden mukaisesti kohdasta 5 eteenpäin.

